

UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE DE LILLE

THESE

présentée par

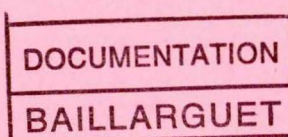
**Marc DESQUESNES**

pour l'obtention du

DOCTORAT DE PARASITOLOGIE

**Les trypanosomoses du bétail  
en Amérique Latine,  
étude spéciale dans le Plateau  
des Guyanes.**

**CIRAD-Dist**  
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE  
BAILLARGUET



**Soutenue le 26 septembre 1997 devant le jury composé de :**

M. Daniel CAMUS, Professeur  
M. René CHERMETTE, Professeur  
M. Jean-Louis FREZIL, Professeur  
M. Louis TOURATIER, Docteur vétérinaire  
M. Gerrit JILENBERG, Professeur

Université de Lille II,  
Ecole Nationale Vétérinaire Alfort  
Directeur de recherche ORSTOM  
Secrétaire du groupe *ad hoc* TANTG  
Directeur de recherche CIRAD-EMVT

Examineur  
Rapporteur  
Directeur de thèse  
Examineur  
Rapporteur



UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE DE LILLE

THESE

présentée par

**Marc DESQUESNES**

pour l'obtention du

DOCTORAT DE PARASITOLOGIE

**Les trypanosomoses du bétail  
en Amérique Latine,  
étude spéciale dans le Plateau  
des Guyanes.**

**Soutenue le 26 septembre 1997 devant le jury composé de :**

M. Daniel CAMUS, Professeur  
M. René CHERMETTE, Professeur  
M. Jean-Louis FREZIL, Professeur  
M. Louis TOURATIER, Docteur vétérinaire  
M. Gerrit UILENBERG, Professeur

Université de Lille II,  
Ecole Nationale Vétérinaire Alfort  
Directeur de recherche ORSTOM  
Secrétaire du groupe *ad hoc* TANTG  
Directeur de recherche CIRAD-EMVT

Examineur  
Rapporteur  
Directeur de thèse  
Examineur  
Rapporteur





*A la mémoire de feux Pierre MOREL et Hugues RAYMOND, qui m'ont initié à leurs passions, l'étude des tiques et des taons ; avec ma profonde reconnaissance.*





## *Remerciements*

*avec ma profonde gratitude, à tous les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail :*

*au Professeur Daniel CAMUS qui m'a fait le grand honneur de participer au jury de thèse;*

*au Professeur René CHERMETTE, qui a bien voulu accepter de juger cette étude, y suggérer la rigueur et la précision qui lui sont chères; pour la confiance réciproque qui a toujours animé nos relations, et pour ses conseils éclairés qui ont soutenu mon travail et ma motivation ;*

*au Professeur Jean-Louis FREZIL, qui a accepté d'être mon directeur de thèse, qui a su m'accueillir et me stimuler dans cette étude, en me laissant libre de mes orientations, mais en sachant guider mon travail par sa vigilance et son intérêt ; pour ses conseils et le partage de son expérience ;*

*au Docteur Louis TOURATIER, qui sait, par ses compétences, sa sympathie et son sens chaleureux des relations humaines, mettre en contact l'ensemble de la communauté scientifique concernée par les trypanosomoses animales non transmises par les glossines ( TANTG), et qui a accepté d'examiner ce travail;*

*au Professeur Gerriit UILENBERG, qui a bien voulu accepter de juger cette étude, qui a toujours su me conseiller, partager sa connaissance et son objectivité, et m'apporter son soutien ; à qui je dois naturellement confiance et respect ;*



en remerciement de leur confiance, aux directeurs de l'(I)EMVT, les Drs PROVOST et TACHER ; qu'ils soient assurés de mon total dévouement aux tâches qu'ils m'ont confiées ;

avec une très grande reconnaissance , à

Sandra VOKATY, grâce à qui est né le « réseau d'information sur les hémoparasites dans les Guyanes », pour les longs moments de travail hors d'heures que nous nous sommes mutuellement donnés, pour nos échanges en français, et pour que vive longtemps le « TRYPNEWS » ;

Dominique CUISANCE et Gérard DUVALLET, pour leurs conseils et leur soutien, et dans l'espoir de renforcer par ce travail l'équipe « trypanos » de l'EMVT ;

Peter GARDINER, Andrew PEREGRINE, Pierre LESSARD, et au Dr GRAY, de l'ILRI, qui m'ont accueilli et guidé à plusieurs reprises et avec réussite dans l'univers d'un des plus grands laboratoires internationaux où certains se sont perdus ;

Joseph KATENDE, à qui je dois tout l'intérêt et la connaissance des techniques de diagnostic, et avec lequel je partage une grande amitié pour « ELISA » et les « carnivores » ;

Emir ESPINOZA, pour avoir donné sa confiance à notre équipe et nous avoir transmis les souches de parasites du Venezuela ;

Frédérique BRENIERE, pour son étroite collaboration aux travaux sur le diagnostic de la maladie de Chagas ;

Carlos MONZON, pour ses informations et les réactifs échangés ;

Godelieve VAN VLAENDEREN, pour sa collaboration au Suriname, en Guyane Française et en Belgique ;

Nestor VAN MEIRVENNE, collaborateur à distance, qui a soutenu nos travaux scientifiquement et financièrement ;

R. LIEUW-A-JOE, pour son soutien et sa philosophie de la vie ;

L. APPLEWHAITE, pour sa patiente et durable collaboration ;

Maxine PARRIS, Léontine BANSSE et Edmund ROZENBLAD, pour leur active et chaleureuse participation, pour nous avoir fait découvrir leurs Guyanes, et avoir supporté nos premiers pas dans l'enseignement ;

avec mon amitié et mes remerciements sincères à ceux qui ont constitué l'équipe « pathologie parasitaire de Guyane Française » pendant ses 6 années d'existence,

Stéphane de LA ROCQUE, Laurence GOUREAU et Le VAN DE (qui connurent l'Empire), Laurent TRESSE, Jean ISSALY et Cécile GARRAIN (qui connurent son déclin),

avec lesquels j'ai partagé amitié et travail, au quotidien, à la paillassse et sur le terrain, les lundi, mardi, mercredi, jeudi, vendredi, samedi, dimanche et jours de fête ;

que soient remerciés ici tous ceux avec lesquels cette équipe a collaboré de près ou de loin au sein du CIRAD-EMVT,

Jean-Marc REIFENBERG qui m'a transmis avec bonne humeur sa connaissance de la polymérisation en chaîne, en anglais et en français ;

Anne GANTEAUME, sans oublier « *Aedes aegypti* et les cobayes » ;

Melle THIERRY, pour sa patiente et constante contribution à la documentation des trypanosomoses ;

Mme NIEL, pour son sincère dévouement aux choses de l'institut, qu'elle trouve ici ma reconnaissance et qu'elle sache combien elle est regrettée depuis la délocalisation, car, sans l'interface agréable et bienveillant qu'elle constituait, la vie est parfois un enfer réglementaire (...);

Jean-Claude KESLACY, qui a su donner aux financements extérieurs la limpidité dont ils n'auraient jamais dû être déparis,

tous ceux du CIRAD-EMVT que je ne peux citer mais qui contribuent quotidiennement à son fonctionnement, qui ont su me recevoir et soutenir mon action par leur compétence et leur professionnalisme ;



avec des remerciements spéciaux à l'endroit de la Guyane Française, où j'ai effectué un séjour fort agréable et instructif ; à

Jacques FAVRE (SVD de la Guyane), qui a su partager sa grande expérience du milieu Guyanais, à la ville comme à la campagne ;

Jean et Marite MORNAND, Fred BUFFARD et Albert RIPOCHE qui ont toujours su avec bonne humeur accueillir nos travaux et nos expériences dans leurs élevages ;

feu, Monsieur PLANQUETTE, qui a reçu avec bienveillance les vétérinaires de l'EMVT à l'INRA ;

le Dr MOREAU pour son accueil à l'Institut Pasteur de la Guyane (IPG),

le Dr Jean-Louis SARTHOU, pour son accueil à l'IPG, son intérêt pour nos travaux et son soutien compréhensif ;

Jean-Claude MICHEL, Thierry FANDEUR, Cécile LE SCANFF, Eliane BOURREAU et François PFAFF, de l'IPG, pour leur accueil multi-récidiviste, leurs conseils et leur soutien technique ;

Olivier LETELLIER et sa bande d'identificateurs pour leur bonne humeur sur le terrain, au soleil et sous la pluie ;

avec mon amitié sincère :

à Isabelle JEANNE et Jean Bernard DUCHEMIN pour leur soutien dans les creux de vague, et leurs conseils épidémio-entomo-pédiâtre-informatiques ;

à Jean-Marc REYNES, pour sa rigueur et sa force de caractère, même s'il n'est pas disponible à certaines heures de télédiffusion... ;

à Bernard BONNEMAIN, le Roi des singes, et Sonia DELEPINE la globe-trotteuse, et à Antoine et Micheline TALARMIN, les « nounous » de Nicolas, pour leur compatissante bienveillance ;

aux inséparables, Laurent, Arnaud, Philippe, et, Bruno, le petit dernier qu'on ne voit plus souvent ;

à ceux que je ne peux citer,  
à mon épouse, et à mon fils,  
à ma famille et mes amis,

heureusement étrangers à tout ceci, sinon de quoi parlerait-on ? !

# **TABLE DES MATIERES**



<b>INTRODUCTION</b>	<b>(VOLUME 1)</b>	<b>16</b>
PRÉHISTOIRE		20
ORIGINE DES TRYPANOSOMES DU BÉTAIL EN AMÉRIQUE LATINE		23
IMPORTANCE		24
 <b>CHAPITRE PREMIER : ÉTAT DES CONNAISSANCES SUR LES TRYPANOSOMES ET TRYPANOSOMOSSES DU BÉTAIL EN AMÉRIQUE LATINE</b>		<b>25</b>
 <b>1 NOMENCLATURE ET MORPHOLOGIE DES TRYPANOSOMES PRESENTS CHEZ LE BÉTAIL EN AMÉRIQUE LATINE</b>		<b>26</b>
1.1 TRYPANOSOMES PATHOGENES DU BÉTAIL		26
1.1.1 <i>Trypanosoma (Duttonella) vivax viennei</i> LAVIER, 1921		26
1.1.2 <i>Trypanosoma (Trypanozoon) evansi</i> (STEEL 1885) BALBIANI, 1888		27
1.1.3 <i>Trypanosoma (Trypanozoon) equiperdum</i> , DOFLEIN, 1901		29
1.2 TRYPANOSOMES PEU OU NON PATHOGENES DU BÉTAIL		29
1.2.1 <i>Trypanosoma (Megatrypanum) theileri</i> , LAVERAN, 1902		31
1.2.2 <i>Trypanosoma (Megatrypanum) ingens</i> , BRUCE, HAMERTON, BATEMAN & MACKIE, 1909		31
1.2.3 <i>Trypanosoma (Megatrypanum) melophagium</i> (FLU, 1908) NÖLLER, 1917		31
1.3 AUTRES TRYPANOSOMES		34
1.3.1 <i>Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi</i> CHAGAS, 1909		34
1.3.2 <i>Trypanosoma (Megatrypanum) mazamarum</i> MAZZA, ROMANA & FIORA, 1932		34
 <b>2 HÔTES</b>		<b>34</b>
2.1 <i>T. VIVAX</i>		34
2.2 <i>T. EVANSI</i>		36
2.3 AUTRES TRYPANOSOMES		37
2.4 AFFINITE DE CES TRYPANOSOMES POUR LEURS HOTES EN AMÉRIQUE LATINE		38
 <b>3 TRANSMISSION</b>		<b>38</b>
3.1 <i>T. VIVAX</i>		38
3.2 <i>T. EVANSI</i>		41
3.3 <i>T. EQUIPERDUM</i>		42
3.4 <i>MEGATRYPANUM</i> SPP.		42
3.5 <i>T. CRUZI</i>		43
 <b>4 PATHOGENICITE ET SIGNES CLINIQUES</b>		<b>44</b>
4.1 <i>T. VIVAX</i>		44
4.1.1 Infections naturelles		44
4.1.2 Infections expérimentales		45
4.1.3 Discussion sur la pathogénicité		46
4.2 <i>T. EVANSI</i>		47
4.3 AUTRES TRYPANOSOMES		48
4.4 CONFUSIONS CLINIQUES		49
4.4.1 Trypanosomoses du cheval		49
4.4.2 Trypanosomoses des ruminants		50
 <b>5 EPIDEMIOLOGIE GENERALE ET IMPORTANCE DES TRYPANOSOMOSSES DU BÉTAIL EN AMÉRIQUE LATINE</b>		<b>54</b>
5.1 <i>T. VIVAX</i> ET <i>T. EVANSI</i>		54
5.1.1 Colombie		54
5.1.2 Venezuela		55
5.1.3 Nord-Est du Brésil		56
5.1.4 Guyanes		58
5.1.5 Autres pays d'Amérique Latine		59
5.2 AUTRES TRYPANOSOMES		63
5.3 IMPORTANCE ÉCONOMIQUE		65
 <b>6 CONCLUSIONS</b>		<b>68</b>

## CHAPITRE DEUXIÈME : ENQUÊTES ÉPIDÉMIOLOGIQUES SUR LES TRYPANOSOMOSES DU BÉTAIL DANS LES GUYANES

69

### INTRODUCTION

70

#### 1 ENQUÊTE SUR LES HEMOPARASITOSE DES BOVINS EN GUYANE FRANÇAISE

73

##### 1.1 MATÉRIEL ET MÉTHODE

73

###### 1.1.1 Prélèvements et sondage

73

###### 1.1.2 Diagnostics parasitologiques

76

###### 1.1.3 Diagnostics sérologiques

76

###### 1.1.4 Analyses statistiques

77

##### 1.2 RÉSULTATS-DISCUSSION

77

###### 1.2.1 Diagnostics parasitologiques

77

###### 1.2.2 Diagnostics sérologiques

78

##### 1.3 CONCLUSION

83

#### 2 ÉTUDE DE *T. EVANSI* EN GUYANE FRANÇAISE

84

##### 2.1 MATÉRIEL ET MÉTHODE

84

##### 2.2 RÉSULTATS-DISCUSSION

85

##### 2.3 CONCLUSION

87

#### 3 ÉPIDÉMIO-SURVEILLANCE BOVINE EN GUYANE FRANÇAISE

87

##### 3.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES

87

##### 3.2 RÉSULTATS-DISCUSSION

87

###### 3.2.1 Période 1 : inter-épizootique

88

###### 3.2.2 Période 2 : foyers épizootiques

88

###### 3.2.3 Période 3 : post-épizootique

90

##### 3.3 CONCLUSIONS

92

#### 4 ENQUÊTES SUR LA TRYPANOSOMOSE DES OVINS EN GUYANE FRANÇAISE

96

##### 4.1 MATÉRIEL ET MÉTHODE

96

##### 4.2 RÉSULTATS-DISCUSSION

96

###### 4.2.1 Diagnostics parasitologiques

96

###### 4.2.2 Diagnostics sérologiques

98

##### 4.3 CONCLUSIONS

98

#### 5 CONCLUSIONS SUR LA TRYPANOSOMOSE À *T. VIVAX* EN GUYANE FRANÇAISE

99

##### 5.1 RÉPONSES APPORTÉES PAR CES TRAVAUX

99

##### 5.2 SYNTHÈSE DES DONNÉES RECUEILLIES

101

#### 6 ENQUÊTES ÉPIDÉMIOLOGIQUES DANS LES GUYANES ÉTRANGÈRES

102

##### 6.1 INTRODUCTION

102

##### 6.2 MATÉRIEL ET MÉTHODE D'ENQUÊTE

103

###### 6.2.1 Collecte et échantillonnage

103

###### 6.2.2 Diagnostics sur place

103

###### 6.2.3 Diagnostics au Laboratoire de Référence

103

##### 6.3 RÉSULTATS

106

###### 6.3.1 Échantillonnage

106

###### 6.3.2 Examens parasitologiques directs

106

###### 6.3.3. CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup>

108

###### 6.3.4 ELISA-indirecte *T. vivax* et PCR

108

##### 6.4 DISCUSSION

108

##### 6.5 CONCLUSION

109

#### 7 *TRYPANOSOMA EVANSI* DANS LES GUYANES ÉTRANGÈRES

111

#### 8 CONCLUSIONS SUR L'ÉPIDÉMIOLOGIE GÉNÉRALE DES TRYPANOSOMOSES DU BÉTAIL DANS LES GUYANES

113



# CHAPITRE TROISIÈME : ÉVALUATION ET AMÉLIORATION DES OUTILS DE DIAGNOSTIC

116

<b>1 TECHNIQUES PARASITOLOGIQUES</b>	<b>117</b>
1.1 REVUE DES TECHNIQUES	117
1.1.1 Examens microscopiques directs	117
1.1.2 Examens microscopiques après concentration	118
1.1.3 Culture des parasites	119
1.1.4 Discussion sur la sensibilité et la spécificité des différentes méthodes	121
1.2 ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ RELATIVE DE L'HCT ET DE LA BCM	122
1.3 ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DE L'HCT POUR LA DÉTECTION DE <i>T. VIVAX</i>	122
1.4 CONCLUSION SUR LES TECHNIQUES PARASITOLOGIQUES	122
<b>2 DIAGNOSTICS SÉROLOGIQUES PAR RECHERCHE D'ANTICORPS</b>	<b>124</b>
2.1 REVUE DES TECHNIQUES DE DÉTECTION DES ANTICORPS	124
2.1.1 Tests d'agglutination	124
2.1.2 Hémagglutination indirecte (HI)	125
2.1.3 Réaction de fixation du complément (RFC)	125
2.1.4 Test d'immunofluorescence indirecte (IFI)	126
2.1.5 Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)	126
2.1.6 Dot-enzyme linked Immuno Sorbent Assay (dot-ELISA)	127
2.1.7 Conclusions partielles sur les techniques de détection des anticorps	128
2.2 ÉVALUATION DES TESTS DE DÉTECTION DES IMMUNOGLOBULINES M	129
2.2.1 CATT test <i>T. evansi</i> <sup>ND</sup>	129
2.2.2 Détection des immunoglobulines M par ELISA-indirecte <i>T. vivax</i>	130
2.2.3 Conclusions	131
2.3 PROPOSITIONS POUR LA STANDARDISATION ET L'INTERPRÉTATION DES TESTS ELISA-INDIRECTE	131
2.3.1 Standardisation internationale de la réaction	133
2.3.2 Standardisation régionale : matériel et méthodes	133
2.3.3 Standardisation régionale : résultats	134
2.4 APPLICATION DE L'ELISA-INDIRECTE <i>T. VIVAX</i> CHEZ LES BOVINS	137
2.4.1 Evolution de la réponse quantitative dans un foyer de trypanosomose bovine	137
2.4.2 Interprétation générale des résultats	138
2.5 ÉVALUATION DE L'ELISA-INDIRECTE <i>T. VIVAX</i> CHEZ DES MOUTONS EXPERIMENTALEMENT INFECTES AVEC DES SOUCHES LOCALES DE <i>T. VIVAX</i>	140
2.5.1 Matériel et méthode	140
2.5.2 Résultats	140
2.5.3 Discussion-Conclusion	142
2.6 INTÉRÊT DES ANTIGÈNES DE <i>T. EVANSI</i> POUR LA DÉTECTION DES INFECTIONS DU BETAIL PAR <i>TRYPANOSOMA</i> SPP.	146
2.6.1 Etude qualitative (western-blottings)	146
2.6.2 Etude quantitative (ELISA-indirectes)	147
2.6.3 Persistance des anticorps après traitement	150
2.6.4 Application des ELISA homologue et hétérologue chez les bovins	150
2.6.4 CONCLUSION	152
<b>3 DIAGNOSTICS SÉROLOGIQUES PAR RECHERCHE D'ANTIGÈNES</b>	<b>153</b>
3.1 REVUE DES TECHNIQUES	153
3.1.1 Anticorps polyclonaux	154
3.1.2 Anticorps monoclonaux	154
3.2 ÉVALUATION DES AG-ELISA <i>T. VIVAX</i> , <i>T. BRUCEI</i> ET <i>T. CONGOLENSIS</i>	155
3.2.1 Matériel et méthode	156
3.2.2 Résultats	156
3.2.3 Discussion	165
3.2.4 Conclusion	166
3.3 DOT-ELISA-ANTIGÈNES	167
<b>4 DIAGNOSTIC PAR PCR</b>	<b>168</b>
4.1 REVUE DES TECHNIQUES	168

4.1.1 Principes généraux de la PCR	168
4.1.2 La PCR appliquée à la détection des trypanosomes	169
4.2 ÉVALUATION DE LA SENSIBILITE DE LA PCR <i>TRYPANOSOMA</i> SPP. SUR SERUM	169
4.2.1 Détection de <i>T. vivax</i>	169
4.2.2 Détection de <i>T. evansi</i>	170
4.3 AMELIORATION DE LA TECHNIQUE DE PREPARATION DES ECHANTILLONS SANGUINS POUR LA DETECTION DE <i>T. VIVAX</i> PAR PCR	170
<b>5 CONCLUSIONS SUR LE DIAGNOSTIC DES TRYPANOSOMOSES EN AMERIQUE LATINE</b>	<b>175</b>
<b>CHAPITRE QUATRIÈME : DÉBUT DE CARACTÉRISATION DES SOUCHES DE <i>T. VIVAX</i> ET <i>T. EVANSI</i> DU VENEZUELA ET DE GUYANE FRANCAISE</b>	<b>177</b>
<b>1 REVUE DE LA CARACTERISATION DES SOUCHES SUD-AMERICAINES DE <i>T. VIVAX</i> ET <i>T. EVANSI</i></b>	<b>179</b>
1.1 <i>T. VIVAX</i>	179
1.2 <i>T. EVANSI</i>	179
1.3 CONSEQUENCES	180
<b>2 CULTURE DE SOUCHES LOCALES SUR SOURIS</b>	<b>180</b>
2.1 <i>T. VIVAX</i>	180
2.2 <i>T. EVANSI</i>	181
<b>3 MORPHOLOGIE ET MORPHOMETRIE DES <i>T. VIVAX</i> ET <i>T. EVANSI</i> LOCAUX</b>	<b>181</b>
3.1 MORPHOLOGIE	181
3.1.1 <i>T. vivax</i>	181
3.1.2 <i>T. evansi</i>	182
3.2 MORPHOMETRIE	185
<b>4 PATHOGENICITE DE DIVERSES SOUCHES DE TRYPANOSOMA SPP.</b>	<b>186</b>
4.1 INFECTIONS EXPÉRIMENTALES DE MOUTONS AVEC DES SOUCHES LOCALES DE <i>T. VIVAX</i>	186
4.1.1 Matériel et méthode	186
4.1.2 Résultats	187
4.1.3 Discussion	191
4.1.4 Conclusion	192
4.2 PATHOGENICITE CHEZ LES BOVINS	192
4.2.1 Infections expérimentales de bovins avec une souche de <i>T. vivax</i> de Guyane	192
4.2.2 Infections naturelles de bovins	192
4.3 CONCLUSION	195
4.3 INFECTIONS EXPERIMENTALES AVEC DES SOUCHES DE <i>T. EVANSI</i>	195
4.3.1 Moutons	195
4.3.2 Bovins	196
4.3.3 Discussion-conclusion	196
<b>5 PROTECTION CROISEE ENTRE SOUCHES DE <i>T. VIVAX</i> DU VENEZUELA ET DE GUYANE FRANCAISE</b>	<b>198</b>
5.1 MATERIEL ET METHODE	198
5.2 RESULTATS-DISCUSSION	198
5.3 CONCLUSION	201
<b>6 CARACTERISATION DES SOUCHES PAR PCR A L'AIDE D'AMORCES ARBITRAIRES</b>	<b>201</b>
6.1 CARACTERISATION DES SOUCHES LOCALES DE <i>T. VIVAX</i> ET <i>T. EVANSI</i>	201
6.1.1 Matériel et méthodes	201
6.1.2 Résultats	202
6.1.3 Discussion	205
6.1.4 Conclusion	206
6.2 ETUDE DU POLYMORPHISME GENETIQUE DES SOUCHES	206
6.2.1 Matériel et méthodes	206
6.2.2 Résultats	206
6.2.3 Discussion-conclusion	208
6.3 CONCLUSION	209



<b>CHAPITRE CINQUIÈME : LUTTE CONTRE LES TRYPANOSOMES ET LEURS VECTEURS</b>	<b>210</b>
<b>1 LUTTE CHIMIQUE</b>	<b>211</b>
1.1 REVUE DES TRYPANOCIDES	211
1.1.1 Acéturate de diminazène	211
1.1.2 Chlorure d'isométymidium	213
1.1.3 Sels d'homidium	213
1.1.4 Suramine et/ou Quinapyramine	214
1.1.5 Mèlarsomine	215
1.1.6 Autres trypanocides	215
1.2 ÉVALUATION DE L'EFFICACITE DE DEUX TRYPANOCIDES SUR DES SOUCHES SUD-AMERICAINES DE <i>T. VIVAX</i> ET <i>T. EVANSI</i>	216
1.2.1 Matériel et méthode	216
1.2.2 Résultats	216
1.2.3 Discussion-conclusion	222
1.3 DISCUSSION SUR LA STRATÉGIE D'UTILISATION DES TRYPANOCIDES	224
1.3.1 Stratégie médicale	224
1.3.2 Stratégie épidémiologique	225
1.3.3 Conclusion	227
<b>2 PERSPECTIVES DE LUTTE IMMUNOLOGIQUE CONTRE LES TRYPANOSOMES</b>	<b>228</b>
<b>3 CONTROLE DE LA TRANSMISSION DES TRYPANOSOMES</b>	<b>229</b>
3.1 REVUE DES MODES DE CONTROLE DE LA TRANSMISSION DES TRYPANOSOMES	229
3.1.1 Transmission vectorielle	229
3.1.2 Autres modes de transmission	234
3.2 IMMUNISATION DE MAMMIFERES CONTRE DES INSECTES HEMATOPHAGES	234
3.2.1 Essais d'immunisation de bovins contre les taons	235
3.2.2 Réflexions sur la stratégie de recherche	236
3.3 ATTRACTIVITE INDIVIDUELLE DES ANIMAUX	237
3.3.1 Evaluation de l'attractivité individuelle du bétail pour les taons	237
3.3.2 Discussion/application	238
3.4 CONCLUSIONS	239
<b>SYNTHÈSES ET CONCLUSION</b>	<b>240</b>
1 La trypanosomose bovine en Guyane Française	241
2 Diagnostic des trypanosomoses du bétail en Amérique Latine	243
3 Contrôle des trypanosomoses et de leurs vecteurs en Amérique Latine	244
4 Extension géographique et temporelle des trypanosomoses du bétail sur le continent américain	245
<b>CONCLUSION</b>	<b>247</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>249</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>268</b>
<b>RESUMES DE LA THESE</b>	<b>270</b>
<b>RESUME EN FRANCAIS</b>	<b>271</b>
<b>RESUME EN ANGLAIS</b>	<b>272</b>

<b>ANNEXES</b>	<b>(VOLUME 2)</b>	<b>273</b>
<b>ANNEXE 1 : EPIDEMIOLOGIE DES TRYPANOSOMOSES</b>		<b>276</b>
Annexe 1.1 : Etude générale des insectes hématophages vecteurs mécaniques des trypanosomes du bétail en Amérique Latine		277
Annexe 1.2 : Nuisances directes et indirectes des insectes hématophages ; importance médicale et économique		291
Annexe 1.3 (publication N° 1) : Epidémiologie de la trypanosomose bovine ( <i>Trypanosoma vivax</i> ) en Guyane Française		303
Annexe 1.4 (publication N° 2) : TRYPNET. New Hemoparasite Information Network		312
Annexe 1.5 : Activités du réseau d'information sur les hémoparasites du bétail dans les Guyanes		319
<b>ANNEXE 2 : DIAGNOSTIC DES TRYPANOSOMOSES</b>		<b>323</b>
Annexe 2.1 (publication N° 3) : Evaluation de la sensibilité du test de WOO pour la détection de <i>Trypanosoma vivax</i>		324
Annexe 2.2 (publication N° 4) : Standardisation internationale des ELISA : intérêts et limites ; propositions de standardisation régionale		332
Annexe 2.3 : Protocoles des ELISA-indirectes <i>Trypanosoma</i> spp. ( <i>T. vivax</i> ou <i>T. evansi</i> )		349
Annexe 2.4 (publication N° 5) : Comparaison de la sensibilité du test de WOO et d'un test de détection des antigènes de <i>Trypanosoma vivax</i> chez deux moutons expérimentalement infectés avec une souche guyanaise du parasite		352
Annexe 2.5 (publication N° 6) : Evaluation of three antigen detection tests (monoclonal trapping ELISA) for African trypanosomes, with an isolate of <i>T. vivax</i> from French Guyana		360
Annexe 2.6 (publication N° 7) : Evaluation of a simple PCR technique for the diagnosis of <i>Trypanosoma vivax</i> in the serum of cattle in comparison to parasitological techniques and antigen-enzyme linked immunosorbent assay (Ag-ELISA)		373
Annexe 2.7 (publication N° 8) : Evaluation de la sensibilité de la PCR pour la détection de l'ADN de <i>Trypanosoma vivax</i> selon divers modes de préparation des échantillons sanguins		384
<b>ANNEXE 3 : LUTTE CONTRE LES TRYPANOSOMES ET LEURS VECTEURS</b>		<b>391</b>
Annexe 3.1 (publication N°9) : French Guyanan stock of <i>Trypanosoma vivax</i> resistant to diminazene aceturate but sensitive to isometamidium chloride		392
Annexe 3.2 : Lutte chimique contre les Tabanidés		397
Annexe 3.3 : Immunisation de mammifères contre des insectes hématophages		401



# LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte géographique de l'Amérique Latine ; situation du Plateau des Guyanes	19
Figure 2 : Classification des trypanosomes des mammifères	22
Figure 3: <i>Trypanosoma vivax</i> ; formes sanguines typiques et atypiques	28
Figure 4: <i>Trypanosoma evansi</i> ; formes sanguines grêles, intermédiaires et trapues	30
Figure 5: <i>Trypanosoma theileri</i> ; formes sanguines adultes et en division	32
Figure 6: <i>Trypanosoma ingens</i> ; formes sanguines	33
Figure 7: <i>Trypanosoma cruzi</i> ; formes sanguines chez des mammifères	35
Figure 8: <i>Anaplasma marginale</i> sur frottis coloré (original)	51
Figure 9: Distribution géographique et séroprévalence de <i>T. vivax</i> et <i>T. evansi</i> au Venezuela	57
Figure 10 a: Distribution géographique de <i>T. vivax</i> en Amérique Latine	62
Figure 10 b: Distribution géographique de <i>T. evansi</i> en Amérique Latine	64
Figure 11: Distribution géographique de <i>T. cruzi</i> en Amérique Latine	66
Figure 12: Cartes géographiques de l'Amérique du Sud et détail du Plateau des Guyanes	72
Figure 13 : Les deux options d'élevage bovin en Guyane, <i>Bos taurus</i> et <i>Bos indicus</i>	74
Figure 14: Découpage de la Guyane Française par zones d'élevage	75
Figure 15 : <i>T. vivax</i> : séroprévalence des antigènes et/ou des anticorps par zone d'élevage chez les bovins	82
Figure 16 : <i>Trypanosoma evansi</i> , chez un chien, Guyane Française	86
Figure 17 : Foyer de trypanosomose due à <i>T. vivax</i> chez des bovins européens	94
Figure 18 : « Advanced Haemoparasite Diagnostic Training Course »	104
Figure 19 : Découpage régional et séroprévalence de la trypanosomose bovine dans les 3 Guyanes	105
Figure 20 : Résultats des ELISA-indirectes <i>T. vivax</i> IgG et IgM au cours d'une infection par <i>T. vivax</i>	132
Figure 21 : Distributions des densités optiques X1000 (DO) ou des pourcentages de positivité relatifs (PPR) de bovins infectés et non infectés par <i>T. vivax</i> en Guyane Française	135
Figure 22 : Evolution de la réponse sérologiques de bovins infectés par <i>T. vivax</i> après traitement	139
Figure 23 : Plaque ELISA-indirecte <i>T. vivax</i> d'un mouton expérimentalement infecté par <i>T. vivax</i>	141
Figure 24 : Evolution quotidienne du PPR (ELISA-indirecte <i>T. vivax</i> ) et de la parasitémie chez des moutons expérimentalement infectés par <i>T. vivax</i>	143
Figure 25 : Evolution de la parasitémie et des PPR en système homologue (ELISA-indirecte <i>T. vivax</i> ) et en système hétérologue (ELISA-indirecte <i>T. evansi</i> ) chez 2 moutons infectés par <i>T. vivax</i>	148
Figure 26 : Evolution de la parasitémie et des PPR en système homologue (ELISA-indirecte <i>T. evansi</i> ) et en système hétérologue (ELISA-indirecte <i>T. vivax</i> ) chez 2 moutons infectés par <i>T. evansi</i>	149
Figure 27 : Parasitémie et scores de densité optique aux Ag-ELISA <i>Trypanosoma</i> spp. du mouton N° 1 infecté par <i>T. evansi</i>	157
Figure 28 : Parasitémie et scores de densité optique aux Ag-ELISA <i>Trypanosoma</i> spp. du mouton N°2 infecté par <i>T. evansi</i>	158
Figure 29 : Parasitémies et densités optiques (DO) en Ag-ELISA <i>Trypanosoma</i> spp. de 4 veaux infectés par <i>T. vivax</i>	160
Figure 30 : Pourcentages d'échantillons positifs à 4 tests de détection de l'infection par <i>Trypanosoma</i> spp. chez 4 veaux expérimentalement infectés par <i>T. vivax</i> (IL4007)	171
Figure 31: Gels d'électrophorèse obtenus par PCR (amorces TVW1 et TVW2) avec plusieurs types de préparation des échantillons, et diverses parasitémies à <i>T. vivax</i>	173
Figure 32 : Morphologie d'un <i>Trypanosoma vivax</i> isolé en Guyane Française (TVFG1)	183
Figure 33 : Morphologie d'un <i>Trypanosoma evansi</i> isolé au Venezuela (TEVA1)	184
Figure 34 : Evolution de la température ou de l'hématocrite et de la parasitémie au cours de l'infection par <i>T. vivax</i> chez le mouton	188
Figure 35 : Evolution du poids d'un mouton non infecté et d'un mouton infecté par TVVG1, traitement et parasitémie de l'animal infecté	190
Figure 36 : Profils parasitémiques de deux moutons infectés par <i>T. vivax</i> (TVVG1), résurgences après rationnement alimentaire	193
Figure 37 : Profils parasitémiques de deux moutons infectés par <i>T. vivax</i> (TVVG1), résurgences après rationnement alimentaire	194
Figure 38 : Parasitémies et hématocrites de 2 moutons infectés par <i>T. evansi</i> du Venezuela (TEVA1)	197
Figure 39 : Hématocrite et parasitémie d'un mouton infecté par TVFG2	199
Figure 40 : Hématocrites et parasitémies de 2 moutons infectés par TVVG1 puis TVFG2	200
Figure 41 : Gels d'électrophorèse obtenus par PCR avec l'oligonucléotide ILO525 sur diverses souches de <i>Trypanosoma</i> spp.	203

Figure 42 : Gel d'électrophorèse obtenu en PCR avec l'oligonucléotide ILO525 sur divers isolats d'une même souche de <i>T. vivax</i> (TVFG2) cultivée sur mouton	207
Figure 43 : Parasitémiés, traitements à l'acéturate de diminazène et réponses en ELISA-indirecte <i>Trypanosoma</i> spp. de moutons infectés par des <i>T. vivax</i> de Guyane Française ou du Venezuela	218
Figure 43 : Parasitémiés, traitements à l'acéturate de diminazène, et réponses en ELISA-indirectes <i>Trypanosoma</i> spp. de moutons infectés par des <i>T. vivax</i> de Guyane Française et du Venezuela	219
Figure 44: Parasitémie, traitements à l'acéturate de diminazène et au chlorure d'isométymidium, et réponse en ELISA-indirecte <i>T. vivax</i> du mouton N°9 infecté par TVFG2	220
Figure 45 : Parasitémie, traitements, et hématocrite du mouton N°7, infecté par TVFG1, et programme de ré-inoculations de TVFG1	220
Figure 46 : Parasitémiés, traitements, et réponses en ELISA-indirecte <i>T. evansi</i> de 2 moutons infectés par <i>T. evansi</i> (TEVA1)	221
Figure 47: Piège de Malaise	232
Figure 48 : Pourcentage de mortalité des femelles de <i>T. importunus</i> nourries sur bovins immunisés ou non immunisés (témoins) contre des antigènes intestinaux de Tabanidés, en fonction du temps, en jours après le repas sanguin	236
Figure 49: Morphologie des divers stades de vie des Tabanidés	280
Figure 50: Cycle de vie des Tabanidés	283
Figure 51 : Variations quotidiennes de l'activité de diverses espèces de Tabanidés	284
Figure 52 : Variations saisonnières de l'activité de diverses espèces de Tabanidés	286
Figure 53 : Les guêpes bembicines, ennemis naturels des taons	288
Figure 54 : Les 4 principales espèces de guêpes bembicines de Guyane Française	290
Figure 55: <i>Cryptotylus unicolor</i> se gorgeant sur un cheval	293
Figure 56 : Évolution du gain moyen quotidien (GMQ) des bovins* (en grammes) et de l'activité des Tabanidés** (abondance relative) au cours de l'année	295
Figure 57 : Liste des agents pathogènes transmissibles aux bétail par les taons	297
Figure 58: Estimation des pertes engendrées par les taons, l'anaplasmose et la trypanosomose chez les bovins	301
Figure 59 : « 2 <sup>nd</sup> Chief Veterinary Officers' Meeting », CIRAD-EMVT-Guyane, Institut Pasteur, Cayenne	321
Figure 60 : Premier Symposium sur les Trypanosomes du Nouveau Monde	322
Figure 61 : Sélection et introduction des femelles à jeun de <i>Tabanus importunus</i> dans une cage de tulle pour le repas sur bovin	404
Figure 62 : Repas épreuve des insectes sur bovin en cage de contention	405
Figure 63 : Elevage des taons au laboratoire	406
Figure 64 : Pourcentage de mortalité des femelles de <i>T. importunus</i> nourries sur bovins immunisés ou non immunisés (témoins) contre des antigènes intestinaux de Tabanidés, en fonction du temps, en jours après le repas sanguin	409



# LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Affinité des principaux trypanosomes des mammifères d'Amérique Latine pour leurs hôtes	39
Tableau II: Superficies et effectifs humains et animaux des Guyanes	71
Tableau III : Résultats des diagnostics sérologiques des hémoparasitoses chez 2953 bovins de Guyane Française	79
Tableau IV: Séroprévalences des autres hémoparasitoses bovines par zone d'élevage	82
Tableau V: Résultats sérologiques de l'épidémio-surveillance sur la trypanosomose bovine menée pendant la période 1	89
Tableau VI : Origine des échantillons et résultats des examens parasitologiques et sérologiques de la trypanosomose dans les élevages bovins infectés prélevés pendant la période 2 de l'épidémio-surveillance	89
Tableau VII : Origine des échantillons et résultats des examens parasitologiques et sérologiques de la trypanosomose dans les élevages bovins prélevés pendant la période 3 de l'épidémio-surveillance	91
Tableau VIII: Origine géographique, date de prélèvement et nombre d'échantillons prélevés dans des élevages de moutons pendant la période 1	97
Tableau IX: Origine des échantillons et résultats des examens parasitologiques et sérologiques de la trypanosomose dans les élevages ovins pendant la période 2	97
Tableau X: Population bovine, échantillonnage théorique et effectif des bovins, par région, au Suriname	107
Tableau XI: Population bovine, échantillonnage théorique et effectif des bovins, par région, au Guyana	107
Tableau XII: Résultats comparés des CATT tests <i>T. evansi</i> <sup>ND</sup> réalisés dans 2 laboratoires	110
Tableau XIII: Echantillonnage et résultats des ELISA-indirectes <i>T. vivax</i> dans les régions du Suriname	110
Tableau XIV: Echantillonnage et résultats des ELISA-indirectes <i>T. vivax</i> dans les régions du Guyana	110
Tableau XV: Estimation de la parasitémie selon le nombre de <i>T. vivax</i> observés dans un tube à hématocrite	123
Tableau XVI: Echantillons testés, résultats positifs aux trois tests Ag-ELISA, et signification	162
Tableau XVII: Etude statistique des liaisons entre parasitémie et antigénémies de 4 veaux expérimentalement infectés par <i>T. vivax</i> (IL4007)	164
Tableau XVIII : Sensibilité et coût de diverses techniques de préparation des échantillons pour la PCR	175
Tableau XIX : Morphométrie de diverses souches de <i>Trypanosoma vivax</i> et <i>T. evansi</i> d'Amérique du Sud étudiées en Guyane Française, ou de souches décrites dans la littérature	185

\* \* \*







# INTRODUCTION

Les trypanosomes sont des protozoaires flagellés qui vivent dans le plasma sanguin, la lymphe et divers tissus de leurs hôtes. Ce sont des parasites obligatoires qui se multiplient chez leurs hôtes définitifs et parfois chez un hôte intermédiaire ; ils sont transmis principalement par des vecteurs hématophages : mammifères (vampires) ou arthropodes, parfois des tiques, mais le plus souvent des insectes piqueurs, vecteurs à transmission cyclique (glossines, réduves, taons) ou mécanique (taons, stomoxes, etc.).

En Afrique, il existe de nombreuses espèces de trypanosomes pathogènes des mammifères, dont l'homme, chez lequel ils provoquent la maladie du sommeil. Ils sont transmis par divers insectes hématophages, les plus importants étant les glossines ou mouches tsé-tsé, agents de transmission cyclique. Les glossines ne sont présentes qu'en Afrique et dans la Péninsule Arabique.

En Amérique Latine, quatre espèces de trypanosomes ont une importance médicale et économique, ou peuvent interférer dans le diagnostic chez le bétail<sup>1</sup> (ruminants domestiques et chevaux): *Trypanosoma cruzi*, *T. equiperdum*, *T. vivax* et *T. evansi*. Seul *T. cruzi*, du groupe des *Stercoraria*, est originaire d'Amérique, les trois autres espèces (du groupe des *Salivaria*), ainsi que leurs principaux hôtes domestiques, ont été importés sur ce continent par l'homme.

*Trypanosoma cruzi*, agent de la maladie de Chagas, est en particulier pathogène pour l'homme et le chien; il est transmis cycliquement à la faveur d'une piqûre dans les déjections des triatomes, ou directement par voie orale; de nombreux mammifères domestiques, et plus de 150 espèces d'animaux sauvages lui servent de réservoir. Il est peu ou non pathogène pour le bétail, mais peut interférer dans le diagnostic des trypanosomoses animales.

*T. equiperdum*, responsable de la dourine ou « mal de coït », maladie chronique des chevaux, a une transmission vénérienne; il a sévi de manière sporadique en Amérique, du Chili au Canada. Il n'a jamais été identifié dans les Guyanes. Ce n'est pas un parasite typiquement sud-américain, il est originaire d'Afrique, mais on le trouve également en Asie.

*T. vivax*, originaire d'Afrique, est un parasite des bovins, ovins, caprins et bubalins, qui provoque de l'anémie et des chutes de production importantes; en Amérique Latine il est transmis mécaniquement par des insectes piqueurs, et sévit dans de nombreux pays, le plus souvent de manière épizootique. Selon les pays, la maladie est appelée « Secadera », « Huequera », ou « Cacho Hueco ».

---

<sup>1</sup> dans le présent document, le mot « bétail » est utilisé au sens large, il inclut les équidés, principalement utilisés comme animaux de travail, pour la conduite des troupeaux de bovins en Amérique Latine.

*T. evansi* est le trypanosome pathogène du bétail ayant l'extension géographique tropicale et subtropicale la plus importante (Asie, Afrique, Amérique Latine); il est responsable du « surra », en Afrique et en Asie, du « Mal de Caderas » au Brésil, de la « Murrina » en Amérique Centrale, et de la « Derrengadera » au Venezuela; c'est un parasite surtout pathogène pour les équidés et le dromadaire, responsable d'enzooties, ou d'épizooties meurtrières; il est transmis mécaniquement par des insectes piqueurs ou des vampires, et possède de nombreux réservoirs sauvages et domestiques.

L'Amérique Latine, constituée du Mexique, de l'Amérique Centrale, de l'Amérique du Sud et des Caraïbes, compte environ un quart de la population bovine mondiale, soit 280 millions de têtes (Anonyme, 1995) dont la plupart sont exposées aux infections à *T. vivax*, *T. evansi* et *T. cruzi*, tandis que les chevaux, principalement utilisés pour la conduite des troupeaux de bovins, sont exposés à *T. evansi*, *T. equiperdum* et *T. cruzi*. Si *T. equiperdum* est sporadique, et si l'importance médicale et économique de *T. cruzi* dans le bétail semblent secondaires, *T. vivax* chez les ruminants domestiques et *T. evansi* chez les chevaux sont considérés comme des fléaux majeurs de l'élevage en Amérique Latine; en conséquence cette étude portera principalement sur ces deux espèces.

Le Plateau des Guyanes, ou région naturelle des Guyanes, est situé au centre nord de l'Amérique du Sud; il s'étend sur 1,5 million de km<sup>2</sup>; il est constitué, d'est en ouest, de la partie Nord Amazonienne du Brésil, de la Guyane Française (Département Outre-mer), du Suriname, du Guyana, et de la partie orientale du Venezuela (**figure 1**). Sa situation géo-climatique et sanitaire lui confère de nombreux points communs avec l'ensemble de l'Amérique Latine, et en particulier avec l'Amérique centrale, et les deux tiers supérieurs de l'Amérique du Sud.

\* \* \*

Après quelques rappels de préhistoire, sont brièvement exposées l'origine des trypanosomes du bétail en Amérique Latine, et leur importance présumée. Les objectifs de notre étude ont été les suivants :

**Le premier objectif** a été de donner une vision globale de l'importance des trypanosomes du bétail dans le Nouveau Monde (**chapitre 1**). Un travail, essentiellement bibliographique, fait le point des connaissances sur ces trypanosomes en Amérique Latine : nomenclature et morphologie, hôtes, modes de transmission, pathogénicité, et répartition géographique. A la suite sont présentées des études spécifiques (travaux personnels) réalisées dans les Guyanes (**Chapitres 2 à 5**), qui contribuent à la connaissance des trypanosomoses du bétail en Amérique Latine.

En ce sens, le **second objectif** a été de déterminer l'importance des trypanosomoses du bétail dans les Guyanes (**chapitre 2**). La mise en place conjointe, par le CIRAD-EMVT<sup>2</sup> et l'IICA<sup>3</sup>, d'un réseau

---

<sup>2</sup> Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement- Elevage et Médecine Vétérinaire Tropicale

<sup>3</sup> Inter-American Institute for Cooperation in Agriculture



d'information sur les hémoparasites dans les Guyanes (TRYPNET), et la collaboration avec des laboratoires internationaux, notamment l'ILRI<sup>4</sup>, ont permis de réaliser des enquêtes épidémiologiques au Guyana, au Suriname et en Guyane Française, afin de déterminer l'importance relative des trypanosomoses par rapport aux autres hémoparasitoses, d'établir la prévalence des infections à *T. vivax* chez les bovins, de collecter et diffuser des informations (TRYPNEWS<sup>5</sup>), éprouver diverses techniques de diagnostic, et établir l'importance relative de *T. evansi* dans les Guyanes. Une épidémio-surveillance a été mise en place en Guyane Française afin de déterminer les principaux éléments de l'épidémiologie de la trypanosomose à *T. vivax* dans le Département.

Le **troisième objectif**, qui découle de l'analyse des résultats des enquêtes épidémiologiques, a été de réévaluer et améliorer les techniques de diagnostic des trypanosomoses (**chapitre 3**). L'évaluation du test de WOO, de tests de détection des immunoglobulines M, et des ELISA-indirectes *Trypanosoma* spp. pour la détection des immunoglobulines G, la réévaluation des antigène-ELISA, ainsi que l'amélioration des ELISA-indirectes et des techniques de PCR pour le diagnostic des trypanosomoses sont présentées.

Le **quatrième objectif (chapitre 4)** a été d'entreprendre une étude plus approfondie des caractéristiques des souches de *T. vivax* et *T. evansi* de Guyane Française et du Venezuela, de les comparer entre elles, et aux souches africaines, mieux connues. L'étude de la morphométrie des parasites, de leur infectivité pour la souris, de leur pathogénicité chez les ovins et bovins, de l'existence d'une protection croisée entre souches de *T. vivax* de Guyane Française et du Venezuela, et l'analyse des empreintes obtenues par les techniques de PCR avec amorces arbitraires sont présentées.

Le **dernier objectif** a été l'étude des modes de lutte contre les trypanosomes et leurs vecteurs (**chapitre 5**). La sensibilité des parasites locaux aux trypanocides les plus utilisés sur le continent est présentée ; conséquemment, la stratégie de l'utilisation des trypanocides en Amérique Latine est discutée et comparée à celle appliquée en Afrique. Des essais de lutte contre des Tabanidés (principaux vecteurs des trypanosomes du bétail en Amérique Latine) par immunisation de bovins à l'aide d'antigènes intestinaux des taons sont présentés.

Au terme de ces études, **une synthèse** sur la trypanosomose à *T. vivax* en Guyane Française est présentée, la stratégie de recherche sur le plan du diagnostic est discutée ainsi que les perspectives de contrôle de *T. vivax* et *T. evansi* en Amérique Latine, et les risques d'extension de ces parasites sur l'ensemble du continent américain.

**Neuf publications scientifiques**, relatives à ces travaux sont présentées en annexe; elles apportent des détails sur les protocoles expérimentaux et sur certains résultats qui sont résumés dans le corps du texte afin d'en alléger la teneur.

---

<sup>4</sup> International Livestock Research Institute (Nairobi, Kenya)

<sup>5</sup> Newsletter of the hemoparasite information network



Figure 1 : Carte géographique de l'Amérique Latine ; situation du Plateau des Guyanes (zone hachurée)



## PRÉHISTOIRE

Les trypanosomoses des vertébrés sont des maladies parasitaires provoquées par des *Trypanosomatidae*. Certains genres de la Famille des *Trypanosomatidae* rencontrés chez les plantes (*Phytomonas*) ou chez les insectes (*Blastocrithidia*), et ceux rencontrés chez les vertébrés (*Trypanosoma*) auraient une origine phylogénétique commune très ancienne (une classification des trypanosomes est rappelée à la **figure 2**). Selon les hypothèses initialement formulées par LEGER (1904), et généralement admises (HOARE, 1972), l'évolution d'insectes non piqueurs en insectes piqueurs, puis de phytophages en hématophages, aurait été concomitante de celle des flagellés intestinaux des insectes en flagellés sanguicoles des vertébrés. Cette évolution serait à l'origine d'importants changements dans la biologie des *Trypanosomatidae* des insectes. Des études récentes menées sur l'ARN ribosomal des *Trypanosomatidae* ne confirment toutefois pas l'hypothèse d'une co-évolution, mais plutôt celle d'une adaptation secondaire des trypanosomes à leurs hôtes et à leurs vecteurs (MASLOV *et al.*, 1996).

Parmi les insectes susceptibles de transmettre les trypanosomes des vertébrés, les premiers fossiles de *Tabanidae* et de moustiques sont datés du Trias (première période de l'ère Secondaire, moins 200 millions d'années). Les plus anciennes traces fossiles de *Glossina* spp. ont été retrouvées dans le Colorado, aux U.S.A., et sont datées du Miocène (troisième période de l'ère tertiaire, moins 25 à moins 5 millions d'années); elles ont été décrites par COCKERELL (1919) sous les noms de *Glossina oligocenus* et *G. osborni*. Toutefois, on estime que des *Proto-Glossinidae* seraient apparus au Trias, en même temps que la plupart des insectes piqueurs (LAMBRECHT, 1980).

Selon LAMBRECHT (1980), l'hypothèse la plus probable permettant d'expliquer l'existence de fossiles de glossines en Amérique du Nord, leur absence en Amérique du Sud, et l'existence actuelle de ces insectes en Afrique, est la suivante: au Trias, les *Proto-Glossinidae* sont présents en Amérique du Nord et en Afrique, lorsque le sud de l'Amérique du Nord est en contact avec le Nord de l'Afrique par un pont de terre dont il ne resterait aujourd'hui que la péninsule de Floride; au Jurassique (moins 180 millions d'années), lorsque les continents se séparent, les glossines poursuivent des évolutions indépendantes en Amérique du Nord et en Afrique. Par la suite, lors de la glaciation, au Crétacé (moins 170 à moins 140 millions d'années), elles succombent au froid qui gagne le continent du Nord vers le Sud, mais ne peuvent envahir l'Amérique du Sud car l'Amérique Centrale est alors immergée. Les glossines d'Amérique se sont donc éteintes, et seules subsistent les glossines d'Afrique.

Selon d'autres hypothèses, la communication entre Amérique du Nord et Afrique aurait eu lieu via l'Europe ; le continent Européen aurait donc également abrité des *Proto-Glossinidae*, disparus dans les mêmes conditions que les glossines d'Amérique (EVENS, 1953).

Les traces fossiles des *Trypanosomatidae* sont, bien entendu, inexistantes, aussi leur histoire ne peut-elle être que supposée. Selon HOARE (1972), chez les *Stercoraria*, comme *T. cruzi*, l'adaptation du parasite à ses vecteurs, punaises piqueuses de la sous-famille des *Triatominae* (*Reduviidae*), serait très ancienne car très robuste, près de 100% des vecteurs étant capables d'être infectés. Le plus probablement,



les *Stercoraria* (dixènes) seraient issus des *Blasthocrithidia* (monoxènes), lorsque leurs hôtes, insectes phytophages, sont devenus hématophages. En revanche, les *Salivaria* résulteraient d'une évolution beaucoup plus tardive à partir de trypanosomes ayant un développement cyclique dans la partie postérieure de l'intestin d'insectes vecteurs, mais qui pouvaient également être transmis mécaniquement, notamment par les glossines. Certaines hypothèses reposant sur l'analyse des ARN kinétoplastiques, permettent de dater la différenciation de *T. brucei* et *T. cruzi* à environ 100 millions d'années (LAKES *et al.*, 1988).

Chez les *Salivaria*, l'adaptation à la transmission cyclique par les glossines serait récente et parfois fragile; sa fragilité étant proportionnelle à la complexité des modifications du cycle biologique. Ainsi, les taux d'infectivité des glossines sont de 20% pour *T. vivax*, premier stade d'évolution avec un développement dans le proboscis, 10% pour *T. congolense*, second stade d'évolution, avec développement dans l'intestin puis migration vers les pièces buccales, et seulement 1% pour le complexe *T. brucei* (1 à 2 /1000 pour *T. b. gambiense* selon FRÉZIL, 1994), stade d'évolution le plus avancé, avec forme infectieuse métacyclique dans les glandes salivaires, après passage dans l'intestin. En outre, la labilité de la transmission cyclique par les glossines conforte cette hypothèse; c'est ainsi que certaines souches de trypanosomes longtemps cultivées au laboratoire, ou en l'absence de transmission cyclique, perdent leur capacité d'infecter les glossines (GARDINER et MAHMOUD, 1990).

On ignore si les *Salivaria* existaient déjà en Amérique du Nord au Miocène et s'ils en ont disparu avec les glossines. Si tel est le cas, leur retour à la transmission mécanique n'aurait pu se faire (pour des raisons inconnues) et/ou l'existence d'hôtes suffisamment sensibles et abondants aurait fait défaut. Il apparaît toutefois plus probable que les *Salivaria* ne se soient différenciés qu'en Afrique, longtemps après la séparation des continents (Crétacé); c'est en effet sur ce continent qu'ils possèdent la plus grande variété d'hôtes, et de vecteurs, ce qui a rendu leur implantation très robuste. LAMBRECHT situe l'événement au milieu de l'ère tertiaire (Oligocène), mais leur spécialisation « salivaire » aurait pu se faire plus tardivement.

L'Amérique du Sud n'abrite naturellement que des *Stercoraria*, parasites primitifs ou directement issus de formes primitives, dont une grande partie des espèces sont proches des trypanosomes des batraciens, des reptiles et des oiseaux (MASLOV *et al.*, 1996). Chez les mammifères, les sous-genre *Megatrypanum* et *Herpetosoma* sont représentés respectivement par une trentaine et une cinquantaine d'espèces non pathogènes, le sous-genre *Schizotrypanum* n'étant constitué que de 3 espèces parasites de mammifères du Nouveau Monde, 5 espèces parasites des chauves-souris, dont certaines sont cosmopolites, et de *T. cruzi*, parasite de l'homme et de très nombreux mammifères (HOARE, 1972). La présence de *Salivaria* en Amérique du Sud résulte donc de leur introduction récente par l'homme, à l'occasion d'importation d'animaux domestiques infectés.

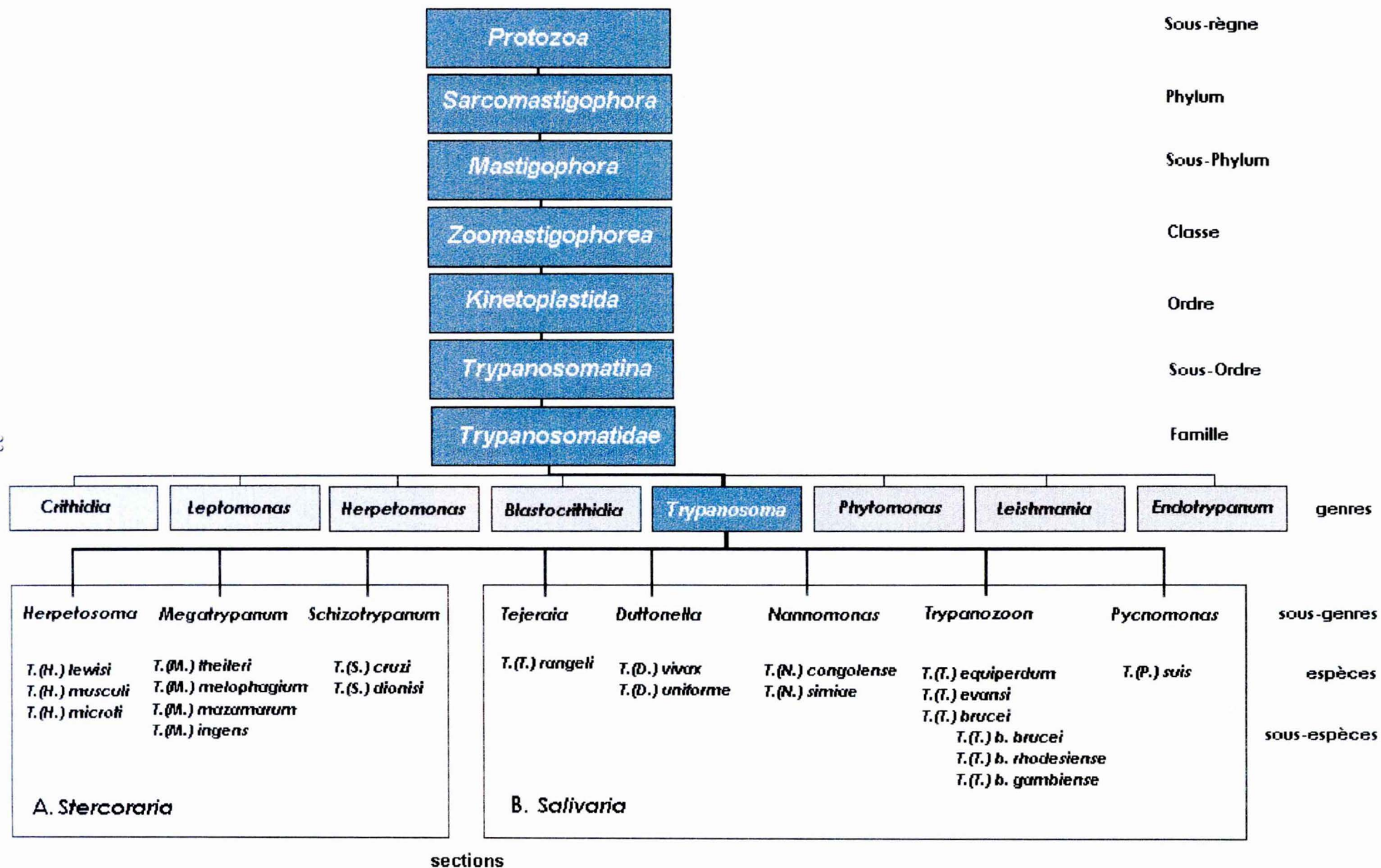


Figure 2 : Classification des principaux trypanosomes des mammifères (d'après OMS, anonyme, 1991 a)



## ORIGINE DES TRYPANOSOMES DU BÉTAIL EN AMÉRIQUE LATINE

Chevaux et bovins ont été introduits en Amérique du Sud par l'homme, du XVI<sup>ème</sup> siècle à nos jours, le plus souvent au départ de pays africains, et en particulier de régions où les trypanosomoses dues à *T. evansi*, *T. equiperdum*, et *T. vivax* sont enzootiques. Si *T. brucei* et *T. congolense* ont été introduits en Amérique Latine, ils ne semblent pas avoir pu se maintenir, probablement du fait de l'absence de glossines, car ils n'ont jamais été signalés dans le Nouveau Monde.

Du fait de sa transmission vénérienne, *T. equiperdum* a eu une diffusion large et précoce en Afrique du Sud, en Europe (XVII<sup>ème</sup>), et en Asie ; il aurait été introduit en Amérique à partir de l'Afrique du Nord, par le commerce des chevaux. *T. equiperdum* a été éradiqué d'Amérique du Nord aux environs de 1950 (HOARE, 1972). Le parasite a été trouvé au Brésil, au Venezuela et au Chili (PINTO, 1933, d'après HOARE, 1972), mais n'a récemment été signalé qu'en Bolivie et au Paraguay (CLARKSON, 1976).

Selon HOARE (1965), *T. evansi* fut introduit en Colombie au XVI<sup>ème</sup> siècle, avec des chevaux arabes de la cavalerie des conquistadores espagnols. Son introduction au Brésil au XIX<sup>ème</sup> est également mentionnée par HOARE (1972), qui précise sa découverte sur l'île de Marajo (estuaire de l'Amazone) en 1827, puis au Paraguay en 1847, à nouveau au Brésil, en 1850 dans le Pantanal et en 1860 dans le Matto Grosso, avant de s'étendre à l'ensemble du Brésil puis de gagner la Bolivie, le Guyana, le Venezuela et la Colombie. L'extension géographique et l'implantation du parasite ont dépendu à la fois des mouvements de chevaux et de la présence d'hôtes sauvages et domestiques (ruminants et carnivores). Des épizooties dues à *T. evansi* sont décrites régulièrement de l'Argentine au Panama (WELLS, 1984).

En 1919, LEGER et VIENNE décrivent pour la première fois en Amérique du Sud, une épizootie de trypanosomose bovine, en Guyane Française, près de Cayenne. Compte tenu de leurs observations sur la morphologie, la morphométrie, et la pathogénicité, et des caractéristiques biologiques du parasite, ne pouvant l'apparenter à aucun autre, ils proposent de baptiser ce trypanosome *Trypanosoma guyanense*. Par la suite, le parasite est rebaptisé *T. viennei*, puis identifié à *T. vivax*. D'après CURASSON (1943), l'introduction du parasite aurait eu lieu aux environs de 1830, lors d'importation de zébus (*Bos indicus*) du Sénégal vers la Guyane et les Antilles Françaises.

En 1926, FABRE et BERNARD pour la Guadeloupe, et en 1929, CAROUGEAU pour la Martinique, signalent des trypanosomoses bovines, attribuées à *T. vivax* par MESNIL. *T. vivax* ne s'implantera pas en Guadeloupe et en Martinique; après quelques épizooties le parasite est identifié pour la dernière fois en Guadeloupe en 1939 par ROUBAUD, et en Martinique, en 1943 (d'après les Archives de l'Institut Pasteur de Martinique, 1943). On peut supposer que la nature et/ou la faible abondance des vecteurs de *T. vivax* présents sur ces îles n'a pas permis une implantation durable. Une récente étude sérologique a confirmé la disparition du parasite de Martinique (ALONSO *et al.*, 1992).

En revanche, l'implantation de *T. vivax* sur le continent sud-américain sera rapide, étendue et pérenne; les dates auxquelles le parasite est signalé n'ont pas valeur de chronologie étant donné l'irrégularité des observations d'un pays à l'autre:

- en 1920, TEJERA décrit *T. vivax* au Venezuela;
- en 1931, PLATA (a et b) signale une épizootie due à *T. vivax* sur la côte atlantique de la Colombie, ayant pour origine l'importation de bétail du Venezuela;



- cité par HOARE (1972), NIESCHULZ enregistre la présence de *T. vivax* au Suriname et au Guyana en 1939;
- JOHNSON la signale au Panama en 1941;
- en 1944, FLOCH et de LAJUDIE découvrent que le parasite est également présent dans le Nord-Est du Brésil, dans l'État du Para et l'Île de Marajo. En 1972, il est à nouveau retrouvé dans les environs de Belém, chez des buffles (SHAW et LAINSON, 1972) ;
- par la suite, les enquêtes menées par WELLS *et al.* (1977 a, b et c) ont montré son existence au Pérou, en Équateur, au Paraguay, au Costa Rica et à El Salvador. Les auteurs considèrent que *T. vivax* est présent dans presque tous les pays d'Amérique Latine, du Paraguay jusqu'à El Salvador, depuis la latitude 12° Nord jusqu'au Tropique du Capricorne (23° Sud) (WELLS *et al.*, 1977 b).

Dans l'ensemble géographique des Guyanes, *T. vivax* a été identifié partout, chez les ruminants domestiques, mais jusqu'en 1990 *T. evansi* n'a été observé qu'au Venezuela, principalement chez les chevaux et capybaras, et sur l'île de Marajo, chez les buffles ; le parasite a été signalé sans confirmation chez les chevaux, au Guyana, mais n'a jamais été identifié en Guyane Française, au Suriname ou dans la région de Macapa (Brésil).

## IMPORTANCE

La pathogénicité de *T. vivax* décrite en 1919 par LEGER et VIENNE était très forte (50% de mortalité). Il y a plus de 50 ans, KUBES (1944) suggérait déjà que l'importance économique de la trypanosomose en Amérique était considérable. VIRVIESCAS (1932) estimait que 12 000 bovins étaient morts de trypanosomose en 1931 et 1932 au Venezuela; toutefois, les données objectives ne permettaient pas toujours d'établir le réel impact sanitaire et économique de cette maladie.

Bien que la pathogénicité du *T. evansi* rencontré en Amérique du Sud soit très forte pour les chevaux, son importance dans la zone géographique étudiée est moindre puisqu'il n'a, jusqu'à ce jour, été signalé qu'au Venezuela et à la frontière brésilienne du Guyana. L'étude de *T. vivax* dans les Guyanes sera en conséquence plus développée que celle de *T. evansi*.

Comme le soulignent CLARKSON (1976), WELLS (1984) et VOKATY (1994), l'information disponible sur les trypanosomoses en Amérique du Sud est fragmentaire. La priorité pour ces pays est de déterminer l'impact économique des trypanosomoses, en particulier par rapport aux autres hémoparasitoses. La présence concomitante de l'anaplasmose et des babésioses peut masquer le diagnostic clinique des trypanosomoses du bétail. De même les traitements appliqués pouvant avoir une action sur plusieurs de ces parasites, la prévalence et l'importance relative de chacun d'eux sont très difficilement évaluées sur le terrain.

Après avoir fait le point des connaissances sur les trypanosomes du bétail en Amérique Latine (chapitre 1), les travaux personnels réalisés dans le cadre de cette étude sont présentés (chapitres 2 à 5).

\* \* \*

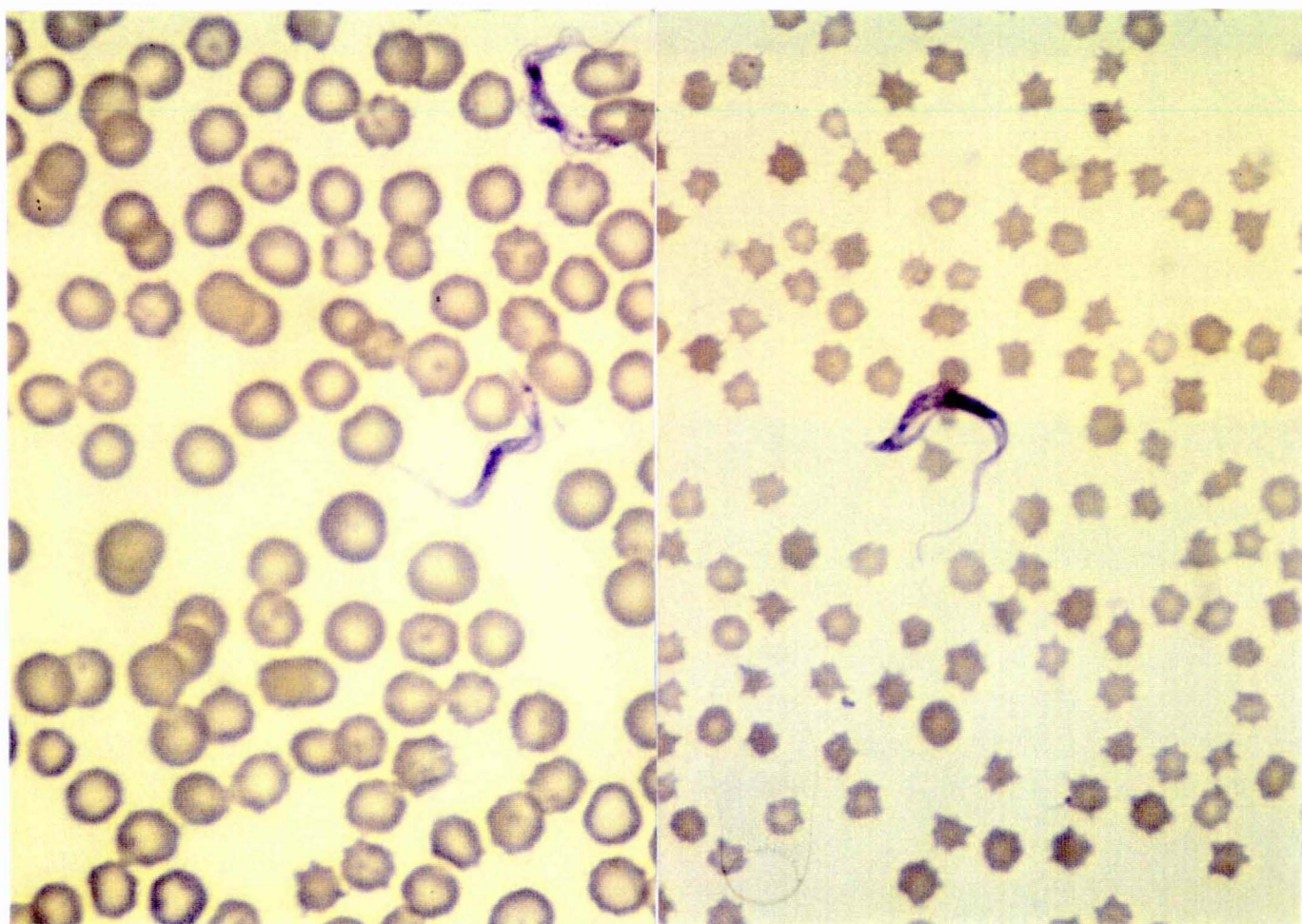






**CHAPITRE PREMIER :**

**ÉTAT DES CONNAISSANCES SUR LES  
TRYPANOSOMES ET TRYPANOSOMOSES  
DU BETAIL EN AMERIQUE LATINE**





## INTRODUCTION

Dans ce premier chapitre, l'étude générale des trypanosomes et trypanosomoses du bétail (nomenclature, morphologie, hôtes, et modes de transmission), principalement bibliographique, sera complétée par celle, moins développée, des autres hémoparasites qui peuvent être rencontrés chez le bétail en Amérique Latine, notamment pour le rôle interférant qu'ils peuvent avoir dans le diagnostic.

Le bilan des connaissances sur la distribution géographique et la prévalence des trypanosomoses du bétail en Amérique Latine sera présenté, ainsi que leur importance médicale et économique.

Les revues bibliographiques sur les techniques de diagnostic de laboratoire, la caractérisation des parasites et les modes de contrôle des trypanosomoses et de leur transmission sont présentées en tête des études spéciales, principalement expérimentales, qui leurs sont consacrées (chapitres 2 à 5).

# 1 NOMENCLATURE ET MORPHOLOGIE DES TRYPANOSOMES PRESENTS CHEZ LE BETAIL EN AMERIQUE LATINE

Le genre *Trypanosoma* appartient à l'embranchement des protozoaires, Ordre des *Kinetoplastida*, famille des *Trypanosomatidae*. Les trypanosomes pathogènes du bétail présents en Amérique Latine sont de la section des *Salivaria*, des sous-genres *Duttonella* pour *T. vivax*, et *Trypanozoon* pour *T. evansi* et *T. equiperdum*. Sont également mentionnés les trypanosomes peu ou non pathogènes qui peuvent interférer dans le diagnostic des trypanosomoses du bétail en Amérique Latine : *T. cruzi*, et certains *Megatrypanum* spp. (cf. classification des trypanosomes, **figure 2**) qui appartiennent au groupe des *Stercoraria*.

Des formes extra-vasculaires, de morphologie parfois différente des formes sanguines, sont décrites occasionnellement pour *T. vivax* (WHITELAW *et al.*, 1988), régulièrement pour *T. evansi*, et majoritairement pour *T. equiperdum* et *T. cruzi*. Dans notre étude, la morphologie des parasites étant présentée pour son application au diagnostic de routine (par prélèvement de sang), seules les formes sanguines des parasites sont décrites. La nomenclature retenue dans les titres de cette partie est celle utilisée par HOARE (1972), mais les noms d'espèce abrégés seront utilisés dans le texte comme indiqué ci-après.

## 1.1 TRYPANOSOMES PATHOGENES DU BETAIL

### 1.1.1 *Trypanosoma (Duttonella) vivax viennei* LAVIER, 1921

*Trypanosoma vivax* a été décrit pour la première fois en Afrique par ZIEMANN, en 1905. En 1919, LEGER et VIENNE découvrent, en Guyane Française, un trypanosome pathogène des bovins. Les signes cliniques évoquent ce qui est connu en Afrique sous le nom de « Nagana » ; ils proposent toutefois de baptiser le parasite de Guyane *Trypanosoma guyanense*. Après quelques hésitations sur la nomenclature (COLAS-BELCOUR, 1938 ; BERNY et SAINT-PRIX, 1935 ; FLOCH, 1943), le nom de *T. vivax* a finalement été retenu par ROUBAUD et PROVOST (1939) pour ce parasite qui en présente les caractéristiques morphologiques (taille et forme) et biologiques (pathogénicité pour les bovidés seuls).

En 1938, ROUBAUD *et al.* montraient que ce trypanosome n'avait pas d'aptitude à évoluer chez les glossines (*Glossina palpalis*), signant ainsi une évolution du parasite en l'absence de son vecteur africain. Par la suite, HOARE (1967) proposait de nommer le trypanosome africain *T. vivax vivax* et le trypanosome

américain *T. vivax viennei* car ce dernier diffère de son parent africain par l'absence d'hôte intermédiaire et des formes particulières à ces stades de développement.

La présence éventuelle de deux trypanosomes du groupe « *vivax* » est évoquée par FLOCH (1943 et 1954) qui décrit un parasite de petite taille (16,7µm) et peu mobile, identifié à *T. vivax uniforme* (le même que celui décrit par TEJERA au Venezuela) et un autre de plus grande taille (22,5µm) très mobile, identifié à *T. vivax vivax*. En revanche, BETANCOURT (1978 a) estime que la taille des *T. vivax* du Nouveau Monde se situe entre celle de *T. v. vivax* et celle de *T. v. uniforme*.

Le comité international de l'OMS<sup>6</sup> (Anonyme, 1978) cité par WELLS (1984) avait proposé pour nomenclature *Trypanosoma vivax viennei* (*T. v. viennei*) pour le parasite américain à transmission mécanique, et *T. v. vivax* pour le parasite africain capable de transmission cyclique. Toutefois, la plupart des auteurs s'accordent à les nommer simplement *T. vivax*; nous nous alignerons sur la pratique de ces derniers.

**Description:** Dans sa forme sanguine, *T. vivax* est un trypanosome de taille moyenne (longueur totale 18-31 µm; moyenne 22,5 µm; largeur 1,5-3 µm); comparé aux souches africaines, le *T. vivax* d'Amérique du Sud est de taille légèrement inférieure (16-26,5 µm). Il possède un flagelle libre (7 µm), une membrane ondulante généralement peu développée, un kinétoplaste le plus souvent terminal, de grande taille (1µm); la région postérieure est arrondie. L'indice kinétoplastique (IK) et l'indice nucléaire (IN) sont égaux ou légèrement supérieurs à 1. En Afrique, on observe des formes grêles et d'autres trapues. En Amérique du Sud où la transmission cyclique n'est pas observée, il n'existe que les formes grêles du parasite; sa morphologie reste toutefois assez variable. Les formes typiques et atypiques du parasite sont reproduites à la **figure 3**. La morphométrie de parasites isolés dans les Guyanes est détaillée dans l'étude spéciale consacrée à leur caractérisation (chapitre 4).

Observé à l'état frais, *T. vivax* a des mouvements très vifs, en particulier le flagelle a un mouvement spirale extrêmement rapide qui permet au parasite de se visser dans le milieu et de traverser les champs du microscope de manière caractéristique.

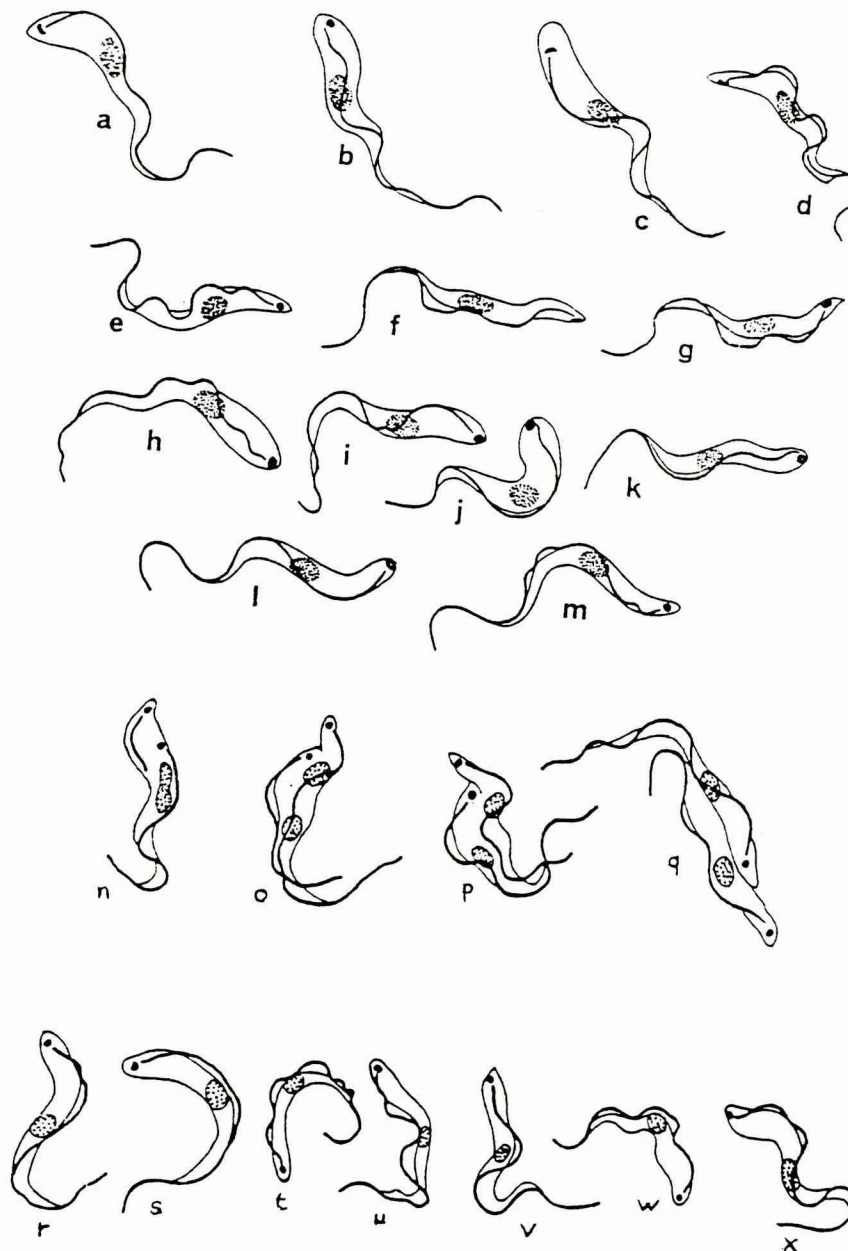
### 1.1.2 *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* (STEEL 1885) BALBIANI, 1888

En Amérique du Sud, *T. evansi* a connu de nombreux synonymes, *T. equina*, *T. equinum*, *T. venezuelense* (VOGES, 1901, LAVERAN et MESNIL, 1904, et MESNIL, 1910, cités par HOARE, 1972), et *T. hippicum* (DARLING, 1910), avant d'être reconnu comme unique agent de la « Murrina » sous le nom de *T. evansi* (HOARE, 1972). Toutefois, en Argentine, le variant dyskinétoplastique responsable du « Mal de Caderas » est parfois encore décrit sous le nom de *T. equinum* (WOO, 1977; MONZON et COLMAN, 1988; GARDINER et MAHMOUD, 1990).

Le comité international de l'O.M.S. avait proposé le nom de *T. brucei evansi* (*T. b. evansi*) (W.H.O., 1978, d'après WELLS, 1984), sur la base de l'hypothèse ancienne (HOARE, 1972) qui suggère que *T. evansi* est dérivé de *T. brucei*; d'après LUN et DESSER (1995), l'évolution de *T. brucei* en *T. evansi* serait due à la perte des maxicercles kinétoplastiques. Toutefois, UILENBERG (1992) et les participants à la « dixième réunion internationale sur *Trypanosoma evansi* » soulignent que, par antériorité, le nom « *evansi* » a la priorité sur « *brucei* », et que la dénomination *T. brucei evansi* n'est pas recevable (TOURATIER 1990).

<sup>6</sup> Organisation Mondiale pour la Santé





**Légende: *Trypanosoma vivax* (X1600).**

a-m formes sanguines typiques: a-f, h, i: souche caprine, Nigeria; g: souche bovine, Nigeria; j-k: souche bovine, Ouganda; l-m: souche bovine, Ile Maurice (a-c et h-j: formes trapues; k-l: formes grêles avec membrane ondulante peu visible, d-g, m: formes grêles avec membrane ondulante bien visible);

n-q formes sanguines en division: a: forme précoce, bipartition du kinétoplaste et début de croissance du nouveau flagelle, noyau non divisé; b: noyau divisé, nouveau flagelle en croissance; c: début de scission du cytoplasme; d: scission presque complète du cytoplasme avec cellule fille individualisée;

r-x formes sanguines atypiques: r-v: souches de ruminants domestiques du Rwanda-Burundi (d'après CHARDOME et PEEL, 1967); w-x: souche humaine (d'après LAVIER, 1927).

**Figure 3: *Trypanosoma vivax* ; formes sanguines typiques et atypiques  
(d'après HOARE, 1972)**

Le groupe *ad hoc* de l'OIE sur les « trypanosomoses animales non transmises par les glossines » préfère donc s'en tenir provisoirement à la nomenclature soumise en 1989 à la Commission Internationale de Nomenclature Zoologique (TOURATIER, 1989, 1990, 1992 a, et 1993), rappelée puis confirmée aux dixième et onzième réunions internationales sur *Trypanosoma evansi* (TOURATIER 1990 et 1992 a): *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi*.

A l'image de la plupart des auteurs nous retiendrons la dénomination brève *T. evansi*.

**Description:** Dans sa forme sanguine, la morphologie de *T. evansi* se rapproche de celle des formes sanguines de *T. brucei*; c'est un trypanosome de taille moyenne (longueur de 15 à 34  $\mu\text{m}$ ; en moyenne 24  $\mu\text{m}$ ), sa largeur est variable puisqu'il présente des formes grêles (2 à 3  $\mu\text{m}$ ) et des formes trapues (3 à 5  $\mu\text{m}$ ), toutefois son polymorphisme est très limité, et la plupart des auteurs ont décrit *T. evansi* comme un parasite monomorphe (formes grêles) (LOSOS, 1980) (**figure 4**). Il possède un flagelle dont la partie libre est courte, de 3 à 5  $\mu\text{m}$  (ou inexistante dans les formes trapues); la membrane ondulante est très développée, créant des « poches de lumière » lors d'observations à l'état frais en contraste de phase. Lorsqu'il est présent, le kinétoplaste est de petite taille (0,6  $\mu\text{m}$ ), placé à une grande distance de l'extrémité postérieure, très effilée dans les formes grêles caractéristiques. L'IK et l'IN sont égaux ou légèrement supérieurs à un (cf. morphométrie, Chapitre 4).

A l'état frais, *T. evansi* a des mouvements vifs, mais ses déplacements effectifs sont faibles.

#### 1.1.3 *Trypanosoma (Trypanozoon) equiperdum*, DOFLEIN, 1901

Tout comme *T. evansi*, dont il est proche, *T. equiperdum* est parfois dyskinétoplastique, soit naturellement, soit à la suite de divers traitements trypanocides (RIOU *et al.*, 1980).

L'O.M.S. avait proposé le nom de *T. brucei equiperdum* (*T. b. equiperdum*) (Anonyme, 1978).

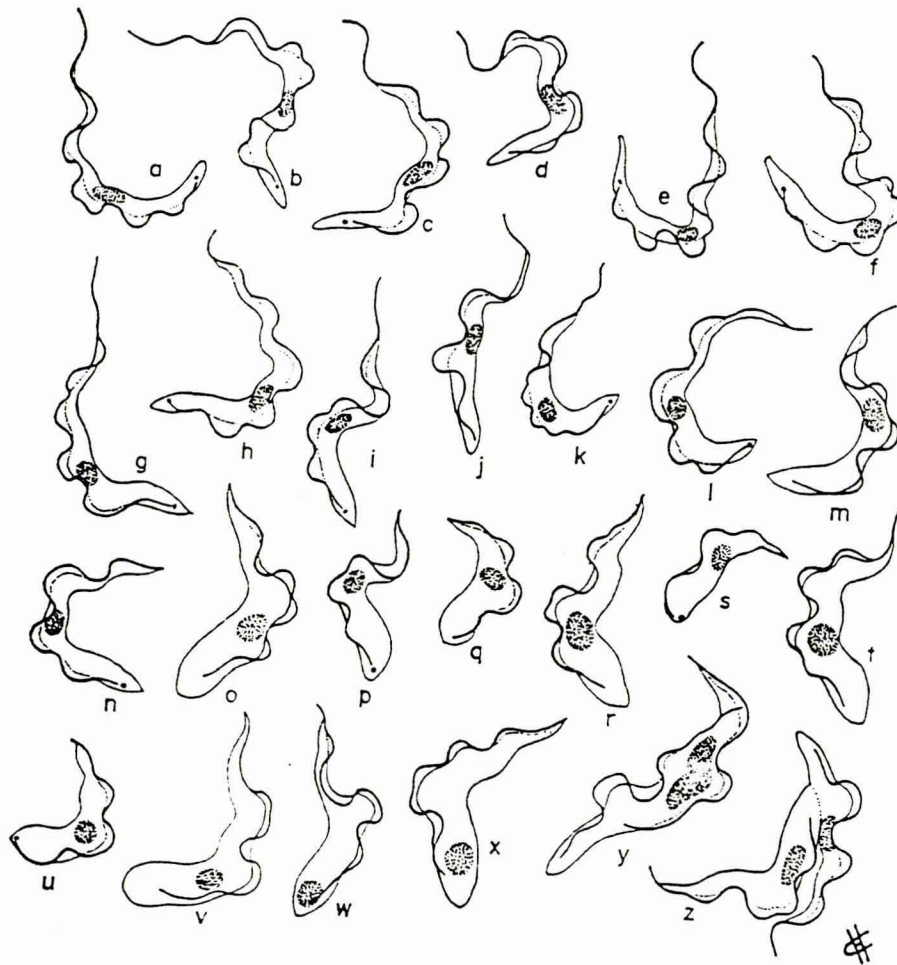
TRAVASSOS SANTOS DIAS (1992, cité par TOURATIER, 1993) a proposé de créer un groupe spécial pour la classification de *T. equiperdum* étant donné sa transmission vénérienne et sa biologie essentiellement tissulaire. Comme indiqué par UILENBERG (1992), et à l'image de la plupart des auteurs, nous retiendrons la dénomination brève de *T. equiperdum*.

**Description:** dans ses formes sanguines, *T. equiperdum* est généralement monomorphe, il ressemble à *T. evansi*, bien qu'il soit parfois de plus petite taille (20 à 29  $\mu\text{m}$ ). Il se présente le plus souvent sous formes grêles ou intermédiaires avec flagelle libre, parfois sous forme trapue et/ou sans kinétoplaste. Il n'est pas possible de le différencier de *T. evansi* sur un frottis ou à l'état frais.

## 1.2 TRYPANOSOMES PEU OU NON PATHOGENES DU BETAIL

Les trypanosomes peu ou non pathogènes du bétail présents en Amérique Latine sont de la section des *Stercoraria*, du sous-genre *Megatrypanum* HOARE, 1964. Ils peuvent être rencontrés avec une incidence non négligeable, et leur présence peut interférer sur le diagnostic, en particulier sur le diagnostic parasitologique; il est donc important de pouvoir les identifier.





**Légende:** *Trypanosoma evansi* formes sanguines de divers hôtes incluant des formes dyskinétoplastiques et pléomorphiques (X1600):

a-f: formes grêles, g-h: formes transitoires entre grêle et intermédiaire; i-l: formes intermédiaires; m-n: formes transitoires entre intermédiaire et trapue; o-x: formes trapue; y-z: formes tardives de division.

**Figure 4: *Trypanosoma evansi* ; formes sanguines grêles, intermédiaires et trapues (d'après HOARE, 1972)**

### 1.2.1 *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* , LAVERAN, 1902

*T. theileri* est un parasite cosmopolite des bovins rencontré également chez le buffle (Asie, Amérique du Sud), et les antilopes (Afrique). Il est généralement considéré comme non pathogène.

**Description:** C'est un parasite de taille variable, généralement plus grand que les précédents (69-109  $\mu\text{m}$ ) mais parfois de taille voisine (25  $\mu\text{m}$ ); sa largeur est de 1,4 à 5  $\mu\text{m}$ . Il possède un flagelle libre (4 à 26  $\mu\text{m}$ ) et une membrane ondulante bien développée. L'IN est légèrement supérieur à un. Le kinétoplaste est de grande taille (1,1  $\mu\text{m}$ ), situé loin de l'extrémité postérieure effilée du parasite; l'IK est élevé (2,5 à 5,8).

A l'état frais, il effectue des mouvements sur place plus lents que les parasites précédents, mais dont les circonvolutions sont plus marquées. Sa taille et sa forme effilée permettent souvent de l'identifier dans les tubes capillaires (technique de WOO, 1969 et 1970); il est toutefois plus juste de limiter l'identification à *Megatrypanum* sp. car on ne peut le distinguer des autres mégatrypanosomes par cette technique.

REICHENOW (travaux de 1940 à 1952), cité par HOARE (1972), décrit la multiplication du parasite chez l'hôte; la forme adulte sanguine circulante se transforme en épimastigote, subit une division binaire inégale pour donner une forme intermédiaire trypomastigote, puis reprend sa forme adulte circulante, dont une illustration est donnée à la **figure 5**.

### 1.2.2 *Trypanosoma (Megatrypanum) ingens* , BRUCE, HAMERTON, BATEMAN & MACKIE, 1909

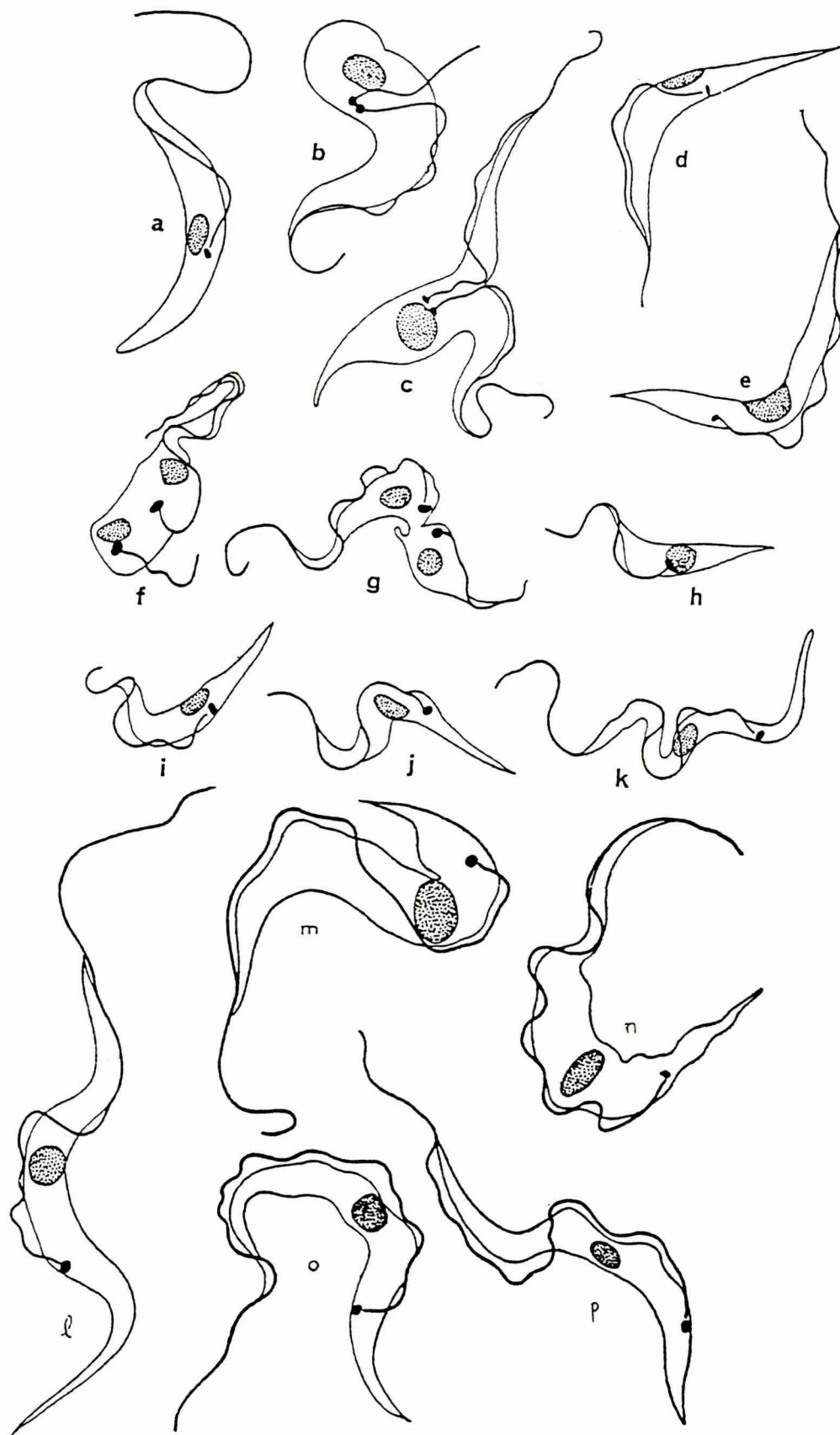
*T. ingens* a été découvert chez les antilopes et les bovins en Afrique. Jusqu'à une date récente, il n'avait été signalé qu'en Afrique, à Java, et en Malaisie (HOARE, 1972). En 1993, L. VAN VLAENDEREN a apporté au laboratoire de l'EMVT-Guyane un frottis de couche leucocyto-plaquettaire d'un tube à hématocrite d'un bovin du Suriname présentant des parasites en tous points semblables aux descriptions de *T. ingens* faites par HOARE.

Par la suite, l'identification des parasites a été réalisée à partir de la morphométrie (longueur totale 62  $\mu\text{m}$ ) et de la morphologie très caractéristique, décrite ainsi par VAN VLAENDEREN (1996): « extrémité postérieure pointue; membrane ondulante faiblement développée; corps du parasite fortement coloré avec structure granulaire dans le cytoplasme rendant impossible la distinction du noyau et du kinétoplaste; présence d'une bande non colorée, transversale, située au milieu du corps, caractéristique de *T. ingens* ». La **figure 6** présente sa morphologie sur frottis coloré. A l'état frais il ne peut être différencié de *T. theileri*.

### 1.2.3 *Trypanosoma (Megatrypanum) melophagium* (FLU, 1908) NÖLLER, 1917

Cette espèce, parasite du mouton, rencontrée principalement en Europe, a été signalée en Afrique du Nord, au Canada, en Australie (HOARE, 1972), et à Madagascar (UILENBERG, communication personnelle), mais également en Argentine (DIOS, 1928, cité par HOARE, 1972) et en Colombie (WELLS *et al.*, 1968). Il semble que sa distribution corresponde essentiellement à celle de son vecteur, *Melophagus ovinus* (*Hippoboscidae*). *T. melophagium* n'est pas rencontré dans la zone intertropicale, sauf en altitude; il est donc absent des Guyanes. Sa morphologie à l'état frais ne permet pas sa distinction de *T. theileri*, bien qu'il soit plus actif que ce dernier; sur frottis coloré, il peut être distingué par sa taille plus faible, et son indice kinétoplastique plus élevé (HOARE, 1972).

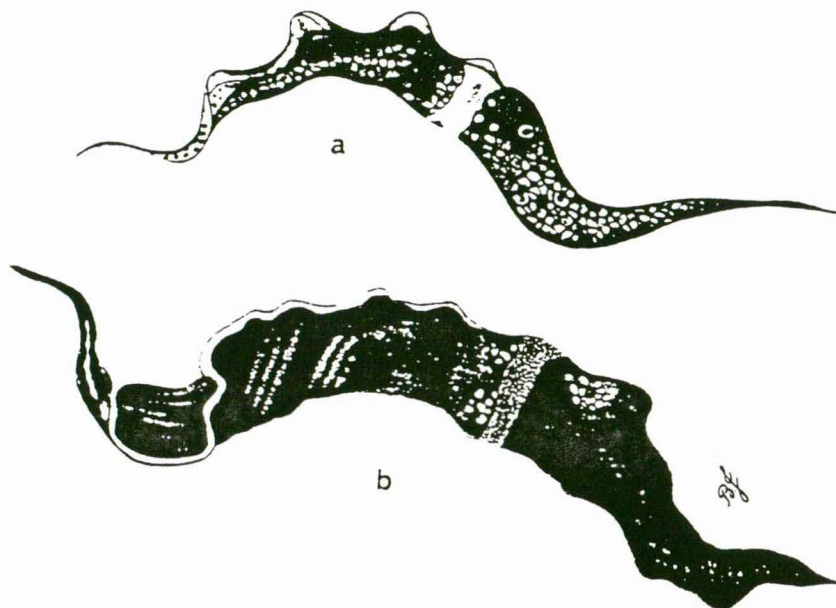




**Légende:** *Trypanosoma theileri*, formes sanguines adultes et en division, bovin (X1600):

a-k: formes sanguines en division; a: pré-division, stade épimastigote; b-c: division binaire; d: cellule fille individualisée; e: jeune trypomastigote (d'après LUHS, 1906); f-g: division binaire inégale; h: cellule fille individualisée; i-j: forme transitoire trypomastigote; k: forme sanguine immature (d'après REICHENOW, 1940); l-p: formes adultes circulantes.

**Figure 5: *Trypanosoma theileri* ; formes sanguines adultes et en division (d'après HOARE, 1972)**



**Légende:** *Trypanosoma ingens* de ruminants africains (X1600):

a: *T. ingens* d'un situtunga (d'après KINGHORN et YORKE, 1913); b: *T. ingens* d'antilope et de bovins (d'après BRUCE *et al.*, 1909); les flagelles ne sont pas représentés sur les figures.

**Figure 6: *Trypanosoma ingens* ; formes sanguines  
(d'après HOARE, 1972)**



### 1.3 AUTRES TRYPANOSOMES

#### 1.3.1 *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* CHAGAS, 1909

*T. cruzi* était initialement décrit du Nord du Mexique (25°N), jusqu'au Rio Negro en Argentine (38°S) (RODHAIN et PEREZ, 1985), chez l'homme et les animaux sauvages et domestiques, notamment chez le bétail. Plus récemment son extension a été décrite aux États Unis, jusqu'en Virginie (BARR *et al*, 1995).

**Description:** Les formes circulantes de *T. cruzi* chez les mammifères sont de deux types: formes trapues possédant un noyau ovale, un kinétoplaste proche de l'extrémité postérieure et un flagelle libre long (8-10 µm); et formes grêles, possédant un noyau allongé, un kinétoplaste subterminal et un flagelle libre court (2-4 µm). La **figure 7** permet d'apprécier les variations morphologiques importantes de cette espèce. La longueur totale des parasites est de 12 à 30 µm, avec une moyenne de 16 à 22 µm. Le parasite est en forme de C ou de S, le kinétoplaste est très gros (1,2 µm) et forme parfois une « tache » qui déborde du corps. La membrane ondulante est faiblement développée, et le noyau est situé dans la partie centrale ou antérieure du corps (IN: 0,9 à 1,9 ou plus).

A l'état frais, les formes fines ont des mouvements rapides, les formes larges ont des mouvements lents.

#### 1.3.2 *Trypanosoma (Megatrypanum) mazamarum* MAZZA, ROMANA & FIORA, 1932

Cette espèce rencontrée en Argentine et au Brésil chez les cerfs (*Mazama rufa* et *M. simplicornis*) ne peut être différenciée de *T. theileri* sur le plan morphologique (HOARE, 1972). Elle pourrait être rencontrée dans les Guyanes mais la réalisations d'examen parasitologiques chez les cerfs des Guyanes n'est pas signalée dans la littérature scientifique. Sa présence chez le bétail n'est pas mentionnée mais reste possible. Les nombreuses autres espèces de trypanosomes rencontrées dans la faune sauvage d'Amérique du Sud n'ont pas été signalées chez le bétail. Ainsi, *T. rangeli*, transmis par les punaises de la famille des *Reduviidae* (sous-famille des *Triatominae*) parasite naturellement l'homme, le singe, le chien et l'opossum (HOARE, 1972); dans des conditions expérimentales, il est infectant pour le cheval, mais des infections naturelles n'ont pas été observées (HERNANDEZ DE PAREDES et PAREDES, 1949, cités par HOARE, 1972). L'interférence éventuelle de tels parasites sur le diagnostic des trypanosomoses du bétail en Amérique Latine est probablement négligeable.

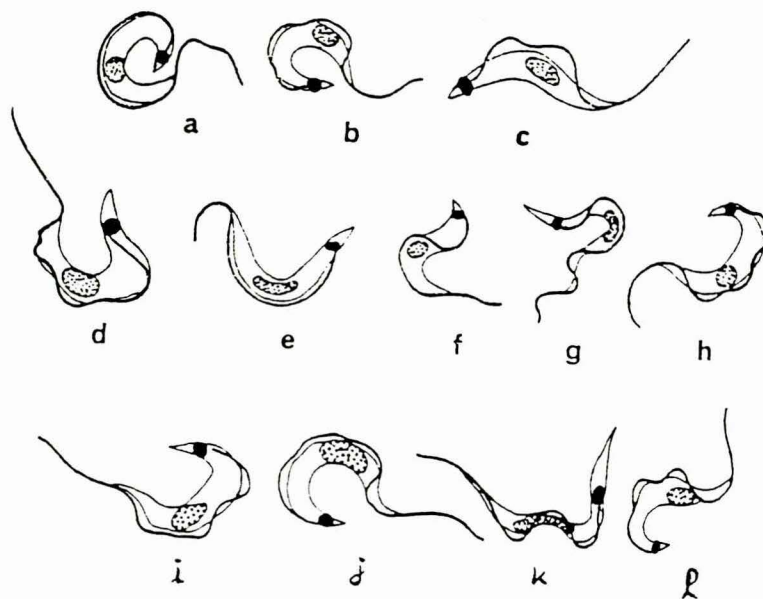
## 2 HÔTES

Bien que seul *T. cruzi* soit réputé pathogène pour l'homme, de rares infections à *T. vivax* ont été décrites chez l'homme, par le passé, au Ghana (MACFIE, 1917, cité par HOARE, 1972) et en Uganda (LAVIER, 1927), mais aucune en Amérique Latine.

#### 2.1 *T. VIVAX*

En Amérique Latine *T. vivax* est rencontré régulièrement chez le zébu (*Bos indicus*) et le boeuf (*Bos taurus*), le mouton (*Ovis aries*) et la chèvre domestiques (*Capra hircus*). Il a été signalé chez le buffle d'eau (ou kérébau) (*Bubalis bubalis*) au Brésil, par SHAW et LAINSON (1972), et DIDONET-LAU et LAU (1988).

Contrairement au *T. vivax* africain, pathogène pour le cheval, et parfois responsable de signes cliniques graves (ANOSA, 1983), le *T. vivax* américain ne semble pas infecter cette espèce (RUIZ-



**Légende:** morphologie des formes sanguines de *Trypanosoma cruzi* chez divers mammifères (X1600):  
a-c: opossum; d: raton laveur; e-g: rats (f: forme trapue, g: forme grêle); h: Mustéliné; i-k: humains (i-j: formes trapues, k: forme grêle); l: Macaque.

**Figure 7: *Trypanosoma cruzi* ; formes sanguines chez des mammifères  
(d'après HOARE, 1972)**



MARTINEZ, 1971), bien qu'un rapport de JOHNSON (1940) fasse état d'une brève parasitémie en conditions expérimentales chez le cheval. Des recherches sérologiques devraient toutefois être entreprises chez le cheval qui pourrait constituer un excellent réservoir du parasite, souvent en contact étroit avec les bovins (chevaux de travail pour la conduite du bétail). Le parasite américain n'infecte pas le chat contrairement à ce qui a été observé au Kenya (BWANGAMOI *et al.*, 1989). L'alpaga (*Lama pasos*) et le lama (*Lama glama*) sont sensibles à l'infection (GARDINER et MAHMOUD, 1990).

Alors qu'en Afrique *T. vivax* possède, outre ses hôtes domestiques (bovins, ovins, caprins, chevaux), de très nombreux hôtes sauvages (artiodactyles, périssodactyles et même carnivores), en Amérique du Sud, parmi les animaux sauvages, seul le cerf (*Odocoileus gymnotis*) a été trouvé infecté, au Venezuela, par FERNANDEZ (1931) et FIASSEN *et al.* (1948). En Guyane Française, compte tenu de la forte pression de chasse exercée au voisinage des élevages, il est peu probable que cette espèce puisse constituer un réservoir de *T. vivax*. En revanche, au Brésil, dans les zones d'élevage hyper-extensif du Pantanal, il n'est pas impossible que les cerfs jouent le rôle de réservoir du parasite (R.A.M.S. SILVA, communication personnelle). La trypanotolérance observée en Afrique dans la faune sauvage (WELLS et LUMSDEN, 1968 ; GROOTENHUIS, 1986) n'a pas été décrite en Amérique Latine ; aucune étude n'est à notre connaissance publiée sur le sujet.

Jusqu'à preuve de l'existence d'un réservoir sauvage effectif, l'implantation de *T. vivax* en Amérique Latine ne dépendrait que de ses hôtes domestiques.

## 2.2 *T. EVANSI*

Les hôtes domestiques de *T. evansi*, présents en Amérique Latine, et pour lesquels il est le plus virulent, sont le cheval (*Equus caballus*), l'âne (*Equus asinus*), ainsi que leurs croisements, le chat (*Felis domesticus*), le chien (*Canis familiaris*), et le buffle d'eau (*Bubalis bubalis*). Le chien sera considéré dans cette étude du fait de ses rôles potentiels d'animal sentinelle et de réservoir péri-domestique de *T. evansi*. Le buffle peut agir comme réservoir, ou, comme il a été signalé en Asie, faire une maladie aiguë avec un fort taux de mortalité (TRONCY *et al.*, 1981). Signalons que le parasite n'est pas pathogène pour le buffle africain (*Syncerus caffer*) (GARDINER et MAHMOUD, 1990).

*T. evansi* peut également infecter les moutons, les chèvres et les bovins qui sont des porteurs souvent asymptomatiques du parasite (BOEHRINGER et PROSEN, 1961). Certaines souches sont virulentes chez les bovins (PAYNE *et al.*, 1992 a et b, et 1993), d'autres sont incapables de les infecter comme il a été observé par RAISINGHANI *et al.* (1981, cité par GARDINER et MAHMOUD, 1990) avec des souches équine. Bien que le porc puisse être infecté, les conditions d'élevage ne l'exposent que très peu à l'infection. Le cobaye (*Cavia porcellus*) peut héberger le parasite, notamment au Pérou, où il est élevé pour sa chair. Par sérologie, FERRIS a détecté la présence de *T. evansi* chez des lamas et des alpagas au Chili (GARDINER et MAHMOUD, 1990). De même, en Colombie, des lamas ont été trouvés infectés (TOURATIER, 1992 a).

Les chauves-souris vampires (*Desmodus rotundus*) ont le triple rôle d'hôte, de réservoir et de vecteur; leur rôle dans l'épidémiologie de *T. evansi* en Amérique du Sud est en conséquence déterminant (HOARE, 1965). De très nombreux animaux sauvages ont été trouvés infectés et pourraient agir comme réservoirs du parasite en Amérique Latine. Le capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), en liberté ou semi-liberté, est un important réservoir potentiel (REVERON *et al.*, 1992); une enquête réalisée en Colombie par

WELLS *et al.* (CLARKSON, 1976) montre que 24% des animaux sont porteurs du parasite; au Venezuela, TORO *et al.* (1982) trouvent 25% d'animaux porteurs d'anticorps, tandis que REVERON *et al.* (1992) en trouvent 70%.

Le coati (*Nasua nasua*) a été trouvé infecté (NUNES et OSHIRO, 1990) et peut présenter des signes cliniques très graves allant jusqu'à la mort (R.A.M.S. SILVA, communication personnelle).

Ont également été trouvés infectés: le chien sauvage (*Canis azarae*), le singe hurleur (*Alouatta seniculus* et *A. ursina*) au Venezuela (RUIZ MARTINEZ, 1971), et les cerfs (*Odocoileus chiriquensis* et *Mazama satorii*) au Panama (LOSOS, 1980). Le parasite a été récemment identifié chez une souris du Nouveau Monde (*Oryzomys* sp.) au Brésil, par NUNES *et al.* (1994). Bien qu'il ait été signalé chez le cochon sauvage (pécari à collier, *Tayassu tajacu*) (d'après VAN VLAENDEREN, 1996), la littérature ne précise pas si le pécaré peut agir comme réservoir.

L'infection chez le chat n'a pas été signalée dans la littérature scientifique, mais celle de l'ocelot (*Felis pardalis*) est signalée en Amérique du Sud (d'après VAN VLAENDEREN, 1996) ainsi que celle du tigre en Inde (BHASKARA RAO *et al.*, 1995), et celle du léopard (JUYAL, d'après TOURATIER, 1996). La plupart des carnivores sont probablement réceptifs. On peut même trouver *T. evansi* chez le poulet (LIU et OU, 1992).

Enfin, des infections expérimentales d'animaux sauvages ont permis de montrer que de très nombreuses espèces pourraient participer à l'épidémiologie de *T. evansi* en Amérique du Sud: Marsupiaux, Chiroptères, Primates, Lagomorphes, Édentés, Rongeurs, Carnivores, Périssodactyles et Artiodactyles (WELLS, 1984, d'après: TEJERA, 1920; CLARK et DUNN, 1933; MORALES et CARRENO, 1976).

Contrairement à *T. vivax*, *T. evansi* bénéficie d'un vaste réservoir sauvage lui permettant de s'implanter en Amérique Latine, indépendamment du bétail.

## 2.3 AUTRES TRYPANOSOMES

*T. equiperdum* n'est trouvé naturellement que chez les équidés. En conditions expérimentales, le lapin et la souris sont également sensibles.

*T. theileri* n'a été trouvé, en Amérique Latine, que chez les bovins, les zébus et les buffles.

*T. mazamarum* n'a été trouvé que chez les cerfs : *mazama rufa* et *mazama simplicornis*.

*T. melophagium* n'est décrit que chez les moutons.

*T. ingens* n'a été trouvé que chez des bovins au Suriname ; étant donné ses hôtes en Afrique (bovins, antilopes, et *Tragulidae*), à Java, et en Malaisie (*Tragulus javanicus*) (HOARE, 1972), *T. ingens* pourrait également être présent chez des hôtes sauvages comme les cerfs, en Amérique du Sud.

*T. cruzi* est un parasite de l'homme et de très nombreuses autres espèces animales, sauvages et domestiques. Un rapport d'experts de l'O.M.S. sur la maladie de Chagas (Anonyme, 1991 a) indique que les études menées en Argentine, au Brésil, au Chili, en Bolivie et au Venezuela révèlent des taux d'infection par *T. cruzi* très variables, allant, chez l'homme, de 0,5 à 2% dans les grandes villes, jusqu'à 20 à 63% dans les zones de forte endémicité; chez le chien, de 4,5 à 100%, et, chez le chat, de 0,5% à 60,9%. Une liste, non exhaustive, de 150 animaux sauvages et d'une dizaine d'animaux domestiques ou péri-domestiques trouvés infectés a été dressée; *T. cruzi* peut, en particulier, être rencontré chez les bovins, les caprins, les porcins et les équidés. Au Chili, des études sérologiques dans les provinces de Elqui, Limari et Choapa ont montré la présence d'anticorps chez 12 à 24% des chiens, 0 à 15% des chats, 5% à 12% des chèvres, 4 à 26% des



lapins, et 4,8% des ovins (CORREA *et al.*, 1982). Parmi les animaux domestiques sensibles, le cobaye pourrait avoir un rôle épidémiologique non négligeable, notamment au Pérou. Au Paraguay, l'étude de FUJITA *et al.* (1994) indique que des anticorps dirigés contre *T. cruzi* ont été trouvés chez des bovins (8%), des porcs (10%), des chiens (36%) et des chats (37,5%); les auteurs suggèrent que ces animaux participent au réservoir de *T. cruzi*. En Guyane Française, les études de prévalence des infections par *T. cruzi* menées par DEDET *et al.* (1985) ont révélé des taux d'infection élevés chez certaines espèces sauvages, notamment péri-domestiques, comme *Didelphis marsupialis* (42,8% d'animaux porteurs du parasite autour du village de Cacao) et *Philander opossum* (6%). Des sérologies positives à *T. cruzi* ont été trouvées chez des chiens à Cacao (RACURT, 1996). *T. cruzi* n'a jamais été signalé dans le bétail des Guyanes, ce qui n'exclut pas des contaminations occasionnelles qui seraient restées inaperçues; le parasite pourrait en conséquence interférer dans le diagnostic des trypanosomoses du bétail, dans le diagnostic parasitologique mais surtout sérologique de la trypanosomose à *T. vivax* chez les ruminants, et celle due à *T. evansi* chez les équidés.

## 2.4 AFFINITE DE CES TRYPANOSOMES POUR LEURS HOTES EN AMERIQUE LATINE

L'étude des trypanosomes rencontre le problème de la spécificité d'espèce des techniques de diagnostic, qui dépend principalement des divers *Trypanosoma* spp. que l'on peut rencontrer chez un hôte donné. Le **tableau I** rappelle les principales espèces de trypanosomes et les hôtes mammifères chez lesquels on peut les rencontrer. Parmi les trypanosomes pathogènes, *T. evansi* et *T. cruzi* se distinguent des autres espèces par une très grande variété d'hôtes, autant dans la faune sauvage que domestique; *T. equiperdum* est le seul parasite quasiment limité à une seule espèce; enfin *T. vivax* est en situation intermédiaire, avec une variété d'hôtes limitée, et, jusqu'à ce jour, un réservoir sauvage potentiel très restreint.

# 3 TRANSMISSION

Bien que la transmission mécanique de *T. vivax* ait été démontrée très tôt, en Afrique, par BOUET et ROUBAUD (1912), et l'incapacité du *T. vivax* des Antilles (ROUBAUD *et al.*, 1938) à réaliser son cycle chez la glossine, pour la plupart des auteurs, les trypanosomoses à *T. vivax*, *T. congolense* et *T. brucei*, ont longtemps été considérées comme des parasitoses strictement liées à la présence des glossines (WELLS 1972) qui assurent leur transmission cyclique. En réalité, on s'aperçoit aujourd'hui que ces parasites sont transmis mécaniquement par d'autres insectes hématophages, et qu'ils peuvent même être transmis mécaniquement par les glossines (ROBERTS *et al.*, 1989). La transmission non cyclique par les taons et les stomoxes n'a été que tardivement évoquée (KALU, 1996), étudiée (D'AMICO *et al.*, 1996) et reconnue par certains auteurs (DIXON *et al.*, 1971); la persistance de *T. vivax* dans des zones libérées de glossines en étant la meilleure preuve. De récents essais de transmission mécanique expérimentale des trypanosomes africains par les stomoxes réalisés par MIHOK *et al.* (1995) ont montré des taux de réussite de 11,5% pour *T. brucei*, 3,4% pour *T. vivax*, 0,9% pour *T. evansi* et 0% pour *T. congolense*. Dans une étude chez la souris SUMBA *et al.* (1997) obtiennent la transmission de *T. congolense* par *S. niger niger* à hauteur de 10%.

## 3.1 T. VIVAX

En dehors de l'Afrique, *T. vivax* a été retrouvé en Amérique Latine, et sur l'île Maurice (ADAMS, 1935; GARDINER et WILSON, 1987). En Amérique Latine, ***T. vivax* est principalement transmis les Tabanidés**

**Tableau I : Affinité des principaux trypanosomes des mammifères d'Amérique Latine pour leurs hôtes**

ESPECES HOTES	Trypanosoma spp.					
	<i>T. vivax</i>	<i>T. evansi</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>T. equi-perdum</i>	<i>T. theileri</i>	<i>T. ingens</i>
<b>cheval</b> ( <i>Equus caballus</i> ), âne ( <i>Equus asinus</i> ) et mule	?	+++++	++	+++++	?	?
<b>bovins</b> ( <i>Bos taurus</i> et <i>Bos indicus</i> )	+++++	++	++		+++++	+++
<b>mouton</b> ( <i>Ovis aries</i> )	+++++	++	++			?
<b>chèvre</b> ( <i>Capra hircus</i> )	+++++	++	++			?
<b>buffle d'eau</b> ( <i>Bubalis bubalis</i> )	+++	+++	++		+++++	?
<b>porc</b> ( <i>Sus scrofa</i> )		++	++			
<b>chien domestique</b> ( <i>Canis familiaris</i> )	?	+++++	+++++			
<b>chat domestique</b> ( <i>Felis catus</i> )	?	++	++			
<b>lapin</b> ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )		?	++	+ *		
<b>homme</b> ( <i>Homo sapiens</i> )	?		+++++			
<b>cerfs</b> : <i>Odocoileus gymnotis</i> :	++	?	++		?	?
<i>O. chiriquensis</i> & <i>mazama satorii</i> :		+++	++		?	?
<b>alpaga</b> ( <i>Lama pasos</i> ) :	+	++	++			
<b>lama</b> ( <i>Lama glama</i> ) :						
<b>cochon d'Inde</b> ( <i>Cavia porcellus</i> )		+++	++			
<b>vampire</b> ( <i>Desmodus rotundus</i> )		+++++	++			
<b>capybara</b> ( <i>Hydrochoerus hydrochaeris</i> )	?	+++++	++			
<b>coati</b> ( <i>Nasua nasua</i> )		+++++	++			
<b>chien sauvage</b> ( <i>Canis azarae</i> )		+++	?			
<b>souris Nouveau Monde</b> ( <i>Oryzomys</i> sp.)		++	++			
<b>opossum</b> ( <i>Didelphis marsupialis</i> )		?	+++++			
<b>singes hurleurs</b> ( <i>Alouatta seniculus</i> & <i>A. ursinus</i> )		+++	?			
<b>cochon sauvage ou pécari</b> ( <i>Tayassa tajacu</i> )		++	?			
<b>saimiri</b> ( <i>Saimiri sciureus</i> )			++			
<b>autres espèces sauvages</b>	?	carnivores	140 espèces	?	?	?

\* sensible expérimentalement

**Légende** : L'affinité d'un trypanosome pour son hôte est représentée par un nombre de croix (+) de 1 à 5; un point d'interrogation (?) est indiqué lorsque, chez une espèce hôte, la présence d'un trypanosome est soupçonnée ou possible mais non confirmée; l'absence d'indication signifie que le trypanosome n'a jamais été rencontré ni soupçonné chez l'hôte envisagé.



**et les Stomoxes** (TRONCY *et al.*, 1981). Toutefois, ce ne sont pas ses seuls vecteurs potentiels, les moustiques, les *Culicoides* (*Ceratopogonidae*), et les mouches piqueuses du genre *Haematobia*, etc. pourraient également intervenir (PAGE, 1972). Le mode de transmission, cyclique ou non, a été encore récemment discuté (WELLS, 1984), mais la plupart des auteurs considèrent que la transmission est **strictement mécanique**.

L'étude générale des principaux insectes hématophages vecteurs de trypanosomes en Amérique Latine est présentée en **annexe 1.1** ; l'étude de leur nuisances directes et indirectes est présentée en **annexe 1.2**, où sont notamment développés les caractéristiques des taons qui favorisent la transmission des trypanosomes. Des essais de transmission mécanique expérimentale de *T. vivax* ont été réalisés avec succès chez de nombreuses espèces de *Stomoxyinae*, notamment chez plusieurs sous-espèces de *Stomoxys niger* (BOUET et ROUBAUD, 1912 ; MIHOK *et al.*, 1995), et diverses espèces de Tabanidés: *Tabanus importunus* (RAYMOND, 1990), *T. nebulosus* (OTTE et ABUABARA, 1991), et *Cryptotylus unicolor* (FERENC *et al.*, 1988 a et b).

Une liste des vecteurs mécaniques de *T. vivax* à Cuba, dressée par CORDOVES *et al.* (1982), mentionne de plus, de nombreuses espèces de *Culicidae*, une espèce de *Ceratopogonidae* (*Culicoides furens*) et une espèce de *Simuliidae* (*Psilopmia quadrivittatum*). La présence de *T. vivax* chez la tique du bétail, *Boophilus microplus*, a été signalée par LOPEZ *et al.* (1979) et CORDOVES *et al.* (1982) ; la transmission transovarienne serait compatible avec la biologie de la tique (monotrope, monophasique), mais cette transmission expérimentale n'a jamais pu être obtenue. Le passage de *Boophilus microplus* d'un bovin à l'autre a été démontré par MASON et NORVAL (1981), mais il est statistiquement très limité; la transmission transstasiale des parasites serait donc possible, mais probablement faible. En outre, l'espace de temps entre deux repas, chez la tique, est généralement long, ce qui n'est pas en faveur d'une transmission mécanique.

Enfin RUIZ MARTINEZ (1971) signale la possibilité de transmission par certaines espèces de *Culex*, *Mansonia* et *Aedes*.

Une liste exhaustive des vecteurs potentiels de *T. vivax* serait donc difficilement dressée, d'autant que des facteurs locaux d'hyper-abondance peuvent rendre une espèce vectrice à un moment donné et en un lieu donné. A titre d'exemple, NOIRTIN *et al.* (1981) enregistrent un record de 60.000 piqûres de simulies en un jour sur un seul bovin; dans un tel contexte, les simulies pourraient probablement être vectrices de *T. vivax*. Nous retiendrons donc que les principaux vecteurs de *T. vivax* sont les taons, en particulier les grandes espèces et les espèces hyper-abondantes, les stomoxes qui sont souvent localement hyper-abondants, et, d'une manière générale, **tout insecte piqueur susceptible d'abonder en zone d'élevage**.

La transmission des trypanosomes par des **mouches suceuses** est également possible; celles-ci notamment attirées par le sang qui s'écoule des lésions de piqûre provoquées par les Tabanidés, pourraient véhiculer le sang parasité d'une plaie à l'autre, et donc d'un animal à l'autre. La transmission expérimentale de la maladie du sommeil a ainsi été décrite par LAMBORN (1936) avec *Musca sorbens*. Aucune modélisation n'a permis d'évaluer l'importance de ce phénomène chez le bétail.

La transmission **iatrogène** de *T. vivax* par la seringue doit également être mentionnée, et prise en compte, lors de la réalisation des prophylaxies collectives. Ainsi, d'après R.A.M.S. SILVA, en 1996-97, aux

confins Brésil-Bolivie-Paraguay, une campagne de vaccination anti-aphteuse serait responsable d'une épizootie à *T. vivax* (L. TOURATIER, communication personnelle).

Enfin, il faut noter que la transmission **congénitale** de *T. vivax* a été observée par BETANCOURT (1978 b) lors d'une épizootie chez le bétail en Colombie, et par GONZALEZ et ESPINOZA (1992) et MELENDEZ *et al.* (1993) au Venezuela. Elle est également signalée chez les bovins en Afrique, en conditions expérimentales par OGWU *et al.* (1986, cité par OKECH *et al.*, 1996 a), et en conditions naturelles par PIGNEUR (1932) au Rwanda, et OKECH *et al.* (1996 a) ; chez la brebis elle a été observée par ELHASSAN *et al.* (1995). Il n'est pas clairement établi que la transmission du parasite ait lieu par voie transplacentaire ou transveineuse au cours des effractions vasculaires qui accompagnent la mise-bas. Dans certains cas, l'observation de parasitémiées élevées dès la naissance sont en faveur d'infections antérieures au part (voie transplacentaire) (BETANCOURT, 1978 b). La transmission congénitale pourrait avoir une grande importance dans l'épidémiologie de la trypanosomose en Amérique Latine ; les jeunes issus d'animaux porteurs sains pouvant être à l'origine de résurgences dans des troupeaux redevenus majoritairement non infectés (GARDINER et MAHMOUD, 1990).

### 3.2 *T. EVANSI*

Les agents de transmission de *T. evansi* sont les **insectes hématophages** et les **chauves-souris vampires**. Des contaminations par ingestion sont également possibles.

Dans sa revue sur la transmission d'agents pathogènes par les Tabanidés, KRINSKY (1976) signale que NIESCHULZ *et al.* avaient démontré que la transmission de *T. evansi* par un seul insecte est possible, et que de très nombreuses espèces de Tabanidés peuvent transmettre, au moins expérimentalement, le parasite. Tous les auteurs s'accordent sur le fait que la transmission de *T. evansi* par les Tabanidés est uniquement mécanique (FOIL, 1989).

D'autres études ont montré le rôle possible des genres *Stomoxys* (LATIF *et al.*, 1992), *Haematobia* et *Culicoides* (LIU et OU, 1992). Parmi les arthropodes hématophages, *T. vivax* et *T. evansi* ont probablement les mêmes vecteurs.

La transmission mécanique par les réduves a été obtenue expérimentalement par MANZ (1985), sur des souris, toutefois, les habitats du bétail et des réduves n'étant que rarement partagés, il est peu probable que ce type de transmission soit fréquent.

La transmission de *T. evansi* par les vampires (*Desmodus rotundus*) a été décrite avec précision par HOARE (1972). Les vampires ont un rayon d'action d'environ 5km (MANN, 1984, d'après CRESPO *et al.*, 1961), ce qui se traduit par une grande capacité de transmission entre élevages. Les vampires sont à la fois hôtes et vecteurs mécaniques du parasite; ils s'infectent par voie orale lors du repas sanguin (passage du parasite au travers de la muqueuse orale), l'infection provoque une maladie qui peut durer jusqu'à un mois et s'achever par la mort ou la guérison du vampire, qui pourra alors rester porteur asymptomatique pendant très longtemps. Après multiplication dans le sang, les parasites sont notamment retrouvés dans la cavité buccale, et sont transmis à la faveur d'une morsure. Des contaminations entre vampires sont possibles, qui permettent le maintien du parasite dans le réservoir en l'absence de l'hôte préférentiel (le cheval). Il est important de noter que la distribution géographique des vampires et de la trypanosomose à *T. evansi* sont très proches (HOARE, 1965), comprises entre les isothermes 10°C de minimum hivernal (MANN, 1984, d'après MAC NAB, 1973). HOARE (1965 et 1972) suggère que les vampires ont un rôle prépondérant dans



la transmission de *T. evansi*, et que les insectes piqueurs n'auraient qu'un rôle occasionnel, lors de fortes pullulations. Les vampires seraient à l'origine des foyers épizootiques étendus par les taons et les stomoxes.

La transmission du parasite est dite « mécanique »; il n'existe pas chez le vampire de forme non infectante et/ou de forme morphologiquement distincte des formes trouvées chez l'hôte. Il n'existe donc pas de cycle biologique du parasite chez les vampires, mais, compte tenu du double rôle vecteur/réservoir, et de l'existence d'une **multiplication du parasite chez le vecteur**, il paraît justifié de considérer le vampire comme un « **vecteur biologique** » de *T. evansi*, différent du « vecteur biologique à transmission cyclique » que représente les glossines pour les *Salivaria* typiquement africains, et différent du simple « vecteur mécanique » que sont les insectes hématophages pour *T. vivax* et *T. evansi*.

La contamination **pérorale** ne concerne pas que les vampires, elle est également signalée chez les chiens et autres carnivores (lions, hyènes), par ingestion de viande fraîche parasitée (CURASSON, 1943). Elle a été confirmée expérimentalement pour *T. brucei* par MOLOO *et al.* (1973) chez le chien et le chat, et pour *T. evansi* par RAINA *et al.* (1985) chez le chien et la souris; les auteurs suggèrent que le parasite est capable de pénétrer au travers de muqueuses buccale ou digestive saines. L'infection des carnivores par voie orale a été démontrée pour *T. brucei*, chez le chat et le chien (d'après MOLOO *et al.*, 1982), et pour *T. evansi* chez le tigre (BHASKARA RAO *et al.*, 1995). Il est probable que cette voie de contamination soit le principal mode d'infection des carnivores en Amérique, et en particulier des chiens.

La transmission **iatrogène** est possible, mais son importance n'est pas déterminée. La transmission par les mouches suceuses ou par voie congénitale n'ont pas été décrites dans le cas de *T. evansi*; elles restent toutefois des voies possibles de transmission du parasite.

### 3.3 *T. EQUIPERDUM*

*T. equiperdum* est transmis par passage à travers les **muqueuses génitales** lors du coït, mais peut également traverser les **muqueuses nasale et oculaires**, expliquant le passage du parasite de la jument au poulain (GARDINER et MAHMOUD, 1990). La transmission par les **insectes hématophages** a également été démontrée, mais elle n'a qu'une faible importance épidémiologique étant donné la brièveté de la parasitémie (WOO, 1970).

### 3.4 *MEGATRYPANUM SPP.*

#### Transmission mécanique iatrogène ou vectorielle

Les parasitémies des *Megatrypanum* spp. chez le bétail sont souvent inférieures à  $10^3$  parasites/ml. De rares cas de parasitémies très élevées ont été signalés avec *T. theileri* en Europe (UILENBERG, communication personnelle). Hormis ces exceptions, les parasitémies, généralement faibles, sont peu favorables à une transmission purement mécanique par les insectes ou de manière iatrogène par le biais des aiguilles vétérinaires. Toutefois, la transmission par régurgitation de formes sanguines pourrait être assurée par les taons et autres insectes piqueurs.

#### Transmission cyclique par les Tabanidés

La transmission des *Megatrypanum* spp. est généralement considérée comme étant du modèle des *Stercoraria* (FOIL, 1989). L'étude du mécanisme est délicate à cause de l'existence très commune d'un *Trypanosomatidae* du genre *Blastocrithidia*, dont les formes épimastigotes présentes dans l'intestin

postérieur des Tabanidés ne peuvent être différenciées de celles des *Megatrypanum* spp. (ni des autres *Trypanosoma* spp. des vertébrés).

*T. theileri* est principalement transmis par les Tabanidés (HOARE, 1972), chez lesquels on observe le cycle typique des *Stercoraria*, avec division par bipartition inégale des formes épimastigotes, puis passage à une forme transitoire trypomastigote, et transformation en métatrypanosomes, forme infectante présente dans l'intestin des Tabanidés qui contaminent les hôtes par leurs déjections. L'introduction du parasite se faisant à la faveur d'une lésion cutanée, notamment due à la piqûre des Tabanidés. La transmission pourrait également être assurée par écrasement des insectes sur le site de la piqûre.

La transmission de *T. theileri* par les **tiques** a également été décrite, notamment chez *Hyalomma anatolicum anatolicum* (SHASTRI et DESHPANDE, 1981).

Comme pour les autres *Trypanozoon*, la transmission **congénitale** est possible mais son importance n'est pas connue (FRÉZIL, 1994).

Le cycle biologique et les vecteurs de *T. ingens* sont inconnus ; on suppose que sa transmission est assurée par les Tabanidés.

### 3.5 *T. CRUZI*

*T. cruzi* n'est pas à proprement parler un trypanosome du bétail, il peut toutefois être rencontré chez les ruminants domestiques et les chevaux; il est transmis **cycliquement par des punaises Reduviidae** : les triatomes ou réduves (*Hemiptera*, *Reduviidae*), sous sa forme infectante métacyclique trypomastigote (métatrypanosome) présente dans les excréments des punaises, qui **souillent les lésions de piqûres** ou les muqueuses, en particulier la **muqueuse oculaire**. Le parasite peut être transmis par piqûre de réduve à réduve, celles-ci constituent donc un réservoir/vecteur de *T. cruzi*.

Les formes infectantes trouvées dans les fèces des punaises peuvent également être transmises par voie **pérorale** (Anonyme, 1991 a). De récents travaux indiquent que, chez la souris, par ingestion d'une punaise infectée, ou des *excreta* de cette punaise, le passage du parasite se ferait à travers la muqueuse gastrique, ce qui induirait une immunité locale (HOFT, *et al.* 1996); ainsi, la contamination des aliments par les excréments des punaises serait à l'origine de certaines infections familiales chez l'homme (LAINSON *et al.*, 1980). L'ingestion de punaises infectées serait à l'origine de la contamination des chien et chat et éventuellement du bétail. Il a été démontré récemment que d'autres trypanosomes, du sous genre *Herpetosoma*, font également l'objet d'une transmission orale chez les rongeurs, même sous leur forme trypomastigote: *T. lewisi*, *T. microti*, *T. evotomys* et *T. grosi* (MARAGHI *et al.*, 1995).

Les triatomes ne sont pas les seuls vecteurs cycliques de *T. cruzi* ; il semble que certains marsupiaux, très souvent trouvés infectés, même en zones urbaines, aient un rôle plus complexe que celui de simple réservoir. En effet, le développement cyclique décrit dans l'intestin des triatomes a également été observé chez *Didelphis marsupialis* (opossum, ou « pian »), chez lequel le passage trypomastigote-épimastigote- trypomastigote métacyclique infectant se déroule dans les glandes anales odorifères (URDANETA MORALES et NIRONI, 1996); les parasites extraits des glandes anales présentent en effet les mêmes caractéristiques que les formes métacycliques des insectes, avec pouvoir infectant par les voies sous-cutanée, intra-péritonéale, pérorale, et trans-conjonctivale. Ces observations permettent de classer *D. marsupialis* parmi les réservoirs/hôtes/vecteurs biologiques à **transmission cyclique** de *T. cruzi*. Il est



surprenant de constater que le cycle typique des *Stercoraria* décrit chez les insectes se déroule également dans la partie distale du tube digestif d'un mammifère.

En outre, la présence de formes infectantes de *T. cruzi* dans les *excreta* de l'opossum rend possible la transmission du parasite en l'absence des punaises, en zone urbaine, et par la simple **contamination d'aliments** par les fèces de l'opossum. Tous les mammifères peuvent ainsi être contaminés par voie orale.

Comme pour *T. evansi*, l'hypothèse d'une transmission de *T. cruzi* sous sa forme sanguine a été démontrée très tôt par DIAS (1940) qui a obtenu la contamination d'un chat par ingestion de rats infectés. **L'ingestion de viande fraîche d'un animal infecté** peut donc être à l'origine de contaminations humaines ou animales, notamment chez le chien. Chez l'homme, les transmissions **congénitales in utero** (transplacentaire), par l'allaitement, ou par **transfusion sanguine** sont également importantes.

Chez le bétail, la contamination pourrait résulter, sinon de la transmission classique directe par la punaise, de l'ingestion de celle-ci ou de ses *excreta*, ou de l'ingestion d'aliments contaminés par des fèces de *Didelphis marsupialis*. Bovins et chevaux partagent rarement le même milieu que les réduves ; pour cette raison, et sauf conditions d'habitat particulières, la contamination du gros bétail est *a priori* marginale. En revanche, les petits ruminants et les porcs partagent plus facilement l'habitat des vecteurs, en particulier dans les conditions d'élevage traditionnelles. L'opossum pourrait constituer un excellent maillon dans la chaîne de contamination, depuis les punaises jusqu'au bétail. L'enquête sérologique menée par FUJITA *et al.* (1994), au Paraguay, indique que 8% des bovins sont infectés, et 10% des porcs; celle d'ALCAINO *et al.* (1995), au Chili, indique que 30 à 38% des chèvres sont porteuses d'anticorps. Les infections du bétail par *T. cruzi* ne seraient donc pas négligeables.

## 4 PATHOGENICITE ET SIGNES CLINIQUES

### 4.1 *T. VIVAX*

#### 4.1.1 Infections naturelles

La pathogénicité du trypanosome décrit par LEGER et VIENNE (1919) chez les bovins de Guyane Française était forte. Les principaux signes cliniques observés furent une anémie progressive accompagnée d'amaigrissement, d'un oedème sous-glossien et des fanons, et de larmolement. Dans les cas les plus graves, une parésie postérieure pouvait conduire à une issue fatale. Dans l'ensemble, la mortalité observée était élevée, puisque, en quelques mois, plus de 50% des 180 animaux concernés étaient morts. En revanche, par la suite, CAMUS et MARTRENCAR (1990) ont observé des symptômes moins prononcés, avec des chutes de poids importantes qui n'étaient pas toujours suivies de croissance compensatoire, trois mois après le traitement. Les observations faites pendant l'épizootie de 1994-95 n'ont qu'à une seule occasion permis d'attribuer la mort d'un bovin à la trypanosomose (J. FAVRE, communication personnelle).

De même en Colombie, les rapports anciens de ZAPATA (1931) et VIRVIESKA (1932) indiquaient de très fortes mortalités dues à *T. vivax*, mais les études ultérieures de WELLS *et al.* (1982 a) indiquent un pouvoir pathogène plus limité, et attribuent cette forte mortalité à des facteurs multiples. Les signes cliniques enregistrés sont : avortements, mortinatalité et fortes chutes de production laitière (WELLS *et al.*, 1982 a), chutes de l'hématocrite et des taux de croissance, sans croissance compensatoire (OTTE *et al.*, 1992). WELLS *et al.* (1982 a) et MATEUS et GONZALEZ (1991) soulignent que *Bos taurus* est plus sensible que

*Bos indicus*. Lors des récentes épizooties au Brésil, les signes cliniques sont prononcés mais les cas fatals sont rares (SILVA *et al.*, 1995 e). Dans l'ensemble, les observations récentes réalisées en Amérique font rarement état d'une mortalité importante ; en règle générale, les signes cliniques sont prononcés dans les foyers nouvellement infectés, et s'estompent par la suite quand la maladie sévit de manière enzootique (STEVENSON, 1995). En outre les animaux importés de zones indemnes sont très réceptifs et sensibles à la maladie. Enfin, des cas mortels sont enregistrés chez les buffles au Brésil (DIDONET-LAU et LAU, 1988). Au Panama, les signes cliniques sont prononcés mais l'évolution rarement fatale (JOHNSON, 1941).

Le syndrome hémorragique décrit en Afrique de l'Est, a été bien documenté par GARDINER (1989) ; des signes hémorragiques ont parfois été observé en Afrique de l'Ouest (VOHRADSKY, 1971), mais n'ont jamais été signalés en Amérique Latine. De même les chancres d'inoculation (DWINGER, 1985, cité par GARDINER, 1989) ne sont pas observés en Amérique; le chancre doit probablement être mis en relation avec la transmission glossinienne et la multiplication du parasite dans le site de la piqûre qui n'aurait pas lieu lorsque des formes sanguines sont inoculées par transmission mécanique.

Sur le terrain la mortalité due à *T. vivax* chez les bovins est modérée en Amérique (WELLS *et al.*, 1970) alors qu'en Afrique on enregistre des taux de mortalité parfois élevés, autant avec les souches d'Afrique de l'Est (ROEDER *et al.*, 1984 ; NAWATHE *et al.*, 1988) qu'avec celles d'Afrique de l'Ouest (LOGAN *et al.*, 1984) réputées fortement pathogènes (TOURE, 1977). D'une manière générale les souches sud américaines sont considérées comme moins pathogènes que les souches africaines (GARDINER, 1989) ; toutefois, même en l'absence de symptômes, OTTE *et al.* (cités par TOURATIER 1993) signalent que des animaux peuvent accuser des chutes de production de 20 à 25%.

#### **4.1.2 Infections expérimentales**

Des infections expérimentales de bovins avec des souches de *T. vivax* sud-américains ont été réalisées par CLARKSON *et al.* (1971 a et b) et HULL (1971) qui enregistrent anémie et chute de condition chez des veaux, des moutons et des chèvres. ESPINOZA *et al.* (1992) décrivent la forte chute du taux d'érythrocytes et ESPINOZA et ASO (1992) celle du taux de leucocytes. DALEY (1971), décrit, en outre, une neutropénie, et des lésions post-mortem d'hypertrophie des ganglions lymphatiques. Dans ses travaux menés en Colombie, VALENCIA (1967) ajoute à ces symptômes la diarrhée, et une chute d'appétit. Il précise que la chute de l'hématocrite est accompagnée d'un faible taux d'hémoglobine, et que l'anémie est tantôt microcytaire, tantôt macrocytaire. Il observe également lymphocytose et monocytose. VAN MEIRVENNE (1992) enregistre des troubles de la coagulation et du système du complément, la chute du taux d'albumine sérique, et l'apparition de complexes immuns et d'immunoglobuline M pouvant avoir des effets pathogènes.

Chez le mouton les signes cliniques sont : fièvre, anémie avec muqueuses pâles, chute de poids, poil terne, et affaiblissement (ESPARTACO SANDOVAL *et al.*, 1995).

Les infections expérimentales de ruminants avec des souches de *T. vivax* présentes en Amérique amènent rarement à la mort des animaux (DALEY, 1971) ; le plus souvent les signes cliniques sont modérés même si les chutes de poids et de condition sont importantes (ESPINOZA *et al.*, 1992 ; SANDOVAL *et al.*, 1995).

En revanche, les travaux menés avec des souches africaines indiquent généralement une forte mortalité. Chez la brebis gestante, des infections expérimentales avec une souche du Nigeria entraînent



mortalité des mères ou avortement, transmission intra-utérine et non viabilité de tous les produits (ELHASSAN *et al.*, 1995). Des mortalités élevées sont enregistrées, autant avec les souches de *T. vivax* du Nigeria chez des moutons et des chèvres pour lesquelles elles atteignent 25% (MASAKE, 1980 ; WHITELAW *et al.*, 1988) , qu'avec des souches du Ghana chez des bovins pour lesquels 75% des animaux sont morts au cours de l'expérience (VOHDRADSKY, 1971), ou encore avec une souche du Burkina Faso chez des ovins et caprins présentant 17% à 75% de mortalité (BENGALY *et al.*, 1993).

Enfin, les localisations extra-vasculaires de *T. vivax*, système nerveux et humeur aqueuse de l'oeil, observées avec des souches africaines (WHITELAW *et al.* 1988) n'ont pas été démontrées pour les souches d'Amérique, mais leur existence est hautement probable.

#### 4.1.3 Discussion sur la pathogénicité

Certaines races de *Bos taurus* élevées en Afrique sont dites « trypanotolérantes » (N'Dama, Baoulé, Muturu, Somba, etc.); ces quelques cas mis à part, les zébus (*Bos indicus*) sont généralement plus résistants que les *Bos taurus*, en particulier les bovins de races européennes améliorées (ROBERTS et GRAY, 1973). Ces races de bovins trypanotolérants n'étant pas présentes en Amérique Latine, les zébus et le bétail européen locaux sont tous réceptifs à la maladie. Parmi les races présentes en Amérique Latine, la sensibilité de *Bos taurus* est donc plus grande que celle de *Bos indicus* (BETANCOURT, 1978 a).

Outre l'aspect génétique, l'intensité de la maladie dépend essentiellement du statut physiologique et immunologique de l'hôte. La gravité des symptômes et la fréquence des rechutes sont fonction notamment de l'état nutritionnel du sujet, de son parasitisme, de la possible présence de maladies intercurrentes, et de l'existence d'une gestation. De même, l'immunosuppression due à *T. vivax* est à l'origine du développement de maladies intercurrentes, comme l'anaplasmose, qui aggravent les symptômes de la trypanosomose, et réciproquement (DE GEE et SHAH, 1979).

La sensibilité à la trypanosomose est donc variable selon le contexte épidémiologique, mais également d'un individu à l'autre ; elle ne dépend pas de l'âge (HOARE, 1972) quoi que l'évolution chez le veau soit plus rare (GARDINER et MAHMOUD, 1990), mais parfois prononcée et mortelle (NAWATHE *et al.*, 1988). Les souches hémorragiques décrites en Afrique n'ont pas été signalées en Amérique.

Les études isoenzymatiques, par caryotypage et sondes d'ADN, réalisées par DIRIE *et al.* (1993 b) sur des souches de *T. vivax* africaines et sud-américaines ont montré une grande similitude entre les souches colombiennes et les souches d'Afrique de l'Ouest. Pourtant les épizooties décrites en Afrique sont généralement beaucoup plus meurtrières; de même les résultats des inoculations expérimentales.

Les souches initialement fortement pathogènes décrites par LEGER et VIENNE (1919) et ZAPATA (1931) en Amérique du Sud auraient-elles perdu de leur pathogénicité ?

FIENNES (1950) affirme que de nombreuses transmissions mécaniques d'une souche de *T. vivax* réduisent sa virulence pour les bovins. Quelques années plus tard, LEWIS (1954, d'après HOARE, 1972) constatait que les deux premiers passages d'une souche sont fortement pathogènes, mais que les passages suivants donnent le plus souvent des infections chroniques. Toutefois, SFORZA (1940) n'enregistre aucune baisse de pathogénicité après 50 passages de *T. vivax* sur veau. Lors d'une récente épidémie observée au Brésil, les signes cliniques ont été très marqués, conduisant parfois à la mort (SILVA *et al.*, 1995 e). Les conditions d'élevage dans le Pantanal sont toutefois insuffisamment décrites pour savoir si l'intensité des



signes traduit la forte pathogénicité des souches ou la grande réceptivité des animaux atteints. Il est donc difficile de conclure sur ce point.

Les signes cliniques de l'infection par *T. vivax* en Amérique du Sud sont très variables ; ils peuvent être totalement inapparents, ou aller d'une simple fièvre passagère à la mort, en passant par des chutes de croissance et de production plus ou moins intenses, l'avortement et le dépérissement. Ils sont généralement marqués lors d'une première épizootie dans une région indemne, ou dans une région où la maladie n'a pas été observée depuis plusieurs années. Par la suite, les signes cliniques s'atténuent au cours du temps jusqu'à disparition totale, du fait de l'installation d'une immunité de prémunition ou de l'élimination spontanée du parasite. A cette issue, il est d'ailleurs difficile de savoir si l'infection persiste de manière occulte ou si elle a véritablement disparu.

Il est probable que la virulence, mais surtout la diversité des souches transmises mécaniquement en Amérique sont plus faibles que celles des souches transmises de manière cyclique en Afrique, ce qui, ajouté à des conditions zootechniques d'élevage insuffisantes, expliquerait la pathogénicité apparente plus marquée en Afrique qu'en Amérique (GARDINER 1989). La caractérisation des souches par PCR à l'aide d'amorces arbitraires apportera peut-être des éléments nouveaux permettant d'expliquer la pathogénicité moindre des souches sud-américaines (cf. chapitre 4).

#### **4.2 T. EVANSI**

Les analyses isoenzymatiques révèlent une grande homogénéité au sein de l'espèce *T. evansi* (GARDINER et MAHMOUD, 1990), en particulier entre les souches américaines et ouest-africaines, ce qui soutient l'hypothèse de l'origine géographique des souches rencontrées en Amérique.

Les symptômes dominants chez le cheval sont des fièvres récurrentes (REYNA *et al.*, 1992), avec une hyperthermie transitoire, anémie et asthénie, ophtalmie avec larmoiement et conjonctivite, urticaire, hypertrophie ganglionnaire, amaigrissement, et, classiquement, oedème de l'auge, des membres et de l'abdomen (SILVA *et al.*, 1995 b). On observe également des hémorragies intra-oculaires (LOSOS, 1980), et des symptômes nerveux correspondant au passage du parasite dans le système nerveux central et l'humeur aqueuse (GARDINER et MAHMOUD, 1990). La multiplication du parasite au site d'inoculation peut engendrer des réactions cutanées (LUCKINS *et al.*, 1991). La morbidité et la mortalité enregistrées chez le cheval au Brésil sont parfois très élevées, atteignant respectivement 97%, et 50 à 83% (SILVA *et al.*, 1995 c). En Argentine, les infections sont parfois asymptomatiques (MONZON et COLMAN, 1988), parfois cliniquement très graves (MONZON *et al.* 1995 a). La pathogénicité de *T. evansi* en Amérique du Sud est donc très variable, et, en cela, comparable à celle observée en Afrique et en Asie (WELLS, 1984). On observe toutefois des variations de pathogénicité, voire de « morphologie » du parasite, qui ont amené à baptiser la maladie de noms différents. *T. equinum* serait un variant dyskinétoplastique, moins pathogène que *T. evansi* chez le cheval, et peu pathogène chez la mule (GARDINER et MAHMOUD, 1990).

Plus que *T. vivax*, *T. evansi* possède des localisations extra-vasculaires dues à ses tropismes nerveux et musculaire. Les infections expérimentales chez le rat (*Proechimys* sp.) révèlent la présence du parasite dans tous les organes, avec infiltration des tissus par les cellules mononucléaires (MORALES et CARRENO, 1976). A l'aide de techniques immuno-histochimiques, SUDARTO *et al.* (1990) montrent que les parasites sont présents dans les espaces de Virchow-Robin du cerveau d'un buffle infecté et atteint d'une



méningo-encéphalite ; des lésions musculaires (nécrose des fibres musculaires et des vaisseaux sanguins avec infiltration par les mononucléaires) ont été décrites par QUINONES *et al.* (1994).

La pathogénicité de *T. evansi* chez les buffles est marquée. Au Viêt-Nam, des taux d'avortements élevés ont été rapportés par NGUYEN DANG KHAI (1995, cité par TOURATIER, 1996) ; en Inde, la mortalité est forte chez les animaux non traités (WALIA *et al.* cités par TOURATIER, 1995). LUCKINS (1992), signale des troubles de la reproduction chez le buffle et met en garde contre la dépression immunitaire induite par *T. evansi*, qui pourrait interférer avec l'usage de certains vaccins. Au Venezuela, GARCIA et ASO (1992) observent splénomégalie, hépatomégalie, adénomégalie et lymphoprolifération, mais l'impact économique des infections n'est pas évalué.

Il ne faut pas négliger l'impact potentiel des infections des bovins. PAYNE *et al.* (1992 a et b, et 1993) signalent hyperthermie, chutes de l'hématocrite et chutes de poids, chez des veaux et des génisses expérimentalement infectés, ou sur du bétail à l'engrais naturellement infecté. D'autre part, la dépression immunitaire engendrée par l'infection est préjudiciable à l'immunisation des animaux lors des campagnes de vaccinations (TOURATIER, 1996), et favorise le développement de maladies intercurrentes. Certains auteurs ont enregistré des symptômes plus prononcés allant jusqu'à la mort des animaux (LOSOS, 1980). Des observations faites par l'auteur (chapitre 4) indiqueront également que l'intensité des symptômes varie selon la souche utilisée, l'espèce hôte (ovin/bovin), et même selon l'individu. GONZALEZ *et al.* (1995) signalent des chutes de l'hématocrite chez la chèvre. L'impact des infections à *T. evansi* sur la production des ruminants domestiques est donc avéré, mais peu documentée en Amérique Latine.

Chez le chien, l'infection est le plus souvent aiguë, avec fièvres intermittentes (38 à 40°C), oedèmes de la tête, de la paroi abdominale et des membres (SILVA *et al.*, 1995 b); on observe également des signes plus spécifiques de kératites, et des hémorragies dans la chambre antérieure de l'oeil (LOSOS 1980). Une anémie microcytaire hypochrome et une forte leucopénie sont signalées, accompagnées d'affaiblissement progressif, d'inappétence et de parésie postérieure (SILVA *et al.*, 1995 b). La révélation des infections à *T. evansi* chez le chien peut indiquer la présence occulte du parasite dans un secteur géographique donné (animal sentinelle), mais l'espèce canine peut également agir comme réservoir du parasite.

La pathogénicité de *T. evansi* apparaît donc variable d'une souche à l'autre, et la réceptivité des hôtes, variable d'une espèce, voire d'un individu, à l'autre. L'impact clinique est généralement élevé chez les chevaux et les chiens ; il est moindre chez les buffles, et souvent invisible chez les ovins et bovins.

L'infection des ruminants en Amérique Latine est très peu documentée.

### 4.3 AUTRES TRYPANOSOMES

#### *T. equiperdum*

Le plus souvent la dourine est une maladie chronique des équins se traduisant par des fièvres modérées, un amaigrissement progressif, et un oedème génital caractéristique. On observe également des oedèmes des parties déclives, une parésie postérieure, l'apparition de plaques cutanées, et parfois des signes pulmonaires. L'évolution est souvent fatale, en 8 à 20 mois.

#### *T. theileri*

*T. theileri* est généralement considéré comme non pathogène (CURASSON, 1925), quoique certains

auteurs lui attribuent l'origine de symptômes observés en cas de maladies intercurrentes (HORNBY et BAILEY, 1929, d'après HOARE, 1972).

Il faut signaler que certaines infections à *T. theileri* chez les bovins se traduisent par des parasitémiées très élevées et des morts foudroyantes (UILENBERG, communication personnelle). Le cas n'a pas été signalé en Amérique Latine.

### ***T. cruzi***

La pathogénicité de *T. cruzi* chez le bétail est peu connue, mais semble assez faible, selon les rares comptes rendus d'expérimentations disponibles. ALCAINO *et al.* (1995) signalent l'absence de symptômes visibles chez un chevreau expérimentalement infecté, mais ils décèlent une hypertrophie ventriculaire par électrocardiographie. Les effets de l'infection à long terme mériteraient une étude approfondie.

Là encore, peu d'investigations ont été faites, les outils de diagnostic spécifiques faisant défaut pour les études de terrain, et l'expérimentation étant limitée par les risques d'infection humaine et/ou le peu d'intérêt que présentent ces travaux *a priori* (pathogénicité présumée faible, durée de vie économique brève des animaux de production).

## **4.4 CONFUSIONS CLINIQUES**

Les techniques de diagnostic de laboratoire des trypanosomoses seront exposées au chapitre 3. A ce stade de l'étude, ne sont présentées que les possibles confusions cliniques des trypanosomoses entre elles, ou avec les autres maladies présentes en Amérique Latine, qui justifient une présentation rapide de ces maladies.

Chez le chien, il est important d'établir le diagnostic des infections à *T. evansi* lors de suspicions ou de foyers déclarés chez les chevaux. Il faut cependant différencier les infections par *T. evansi* et *T. cruzi* ; les signes cliniques sont peu spécifiques, les signes cardiaques sont en faveur d'une infection à *T. cruzi* et les signes oculaires en faveur d'une infection à *T. evansi*, mais l'évolution vers la mort est très rapide ; le plus souvent, seul le diagnostic de laboratoire permet de différencier les deux infections.

### **4.4.1 Trypanosomoses du cheval**

La trypanosomose équine due à *T. evansi* peut cliniquement être confondue avec l'anémie infectieuse des équidés (AIE) appelée « pesta bova », qui, comme la « Derrengadera », peut être transmise par les taons (FOIL *et al.*, 1988) et provoquer, dans sa forme chronique, des fièvres intermittentes, de l'anémie, des oedèmes des parties basses et de l'amaigrissement (FOIL *et al.*, 1988). Les infections par *T. equiperdum* peuvent également être confondues, en particulier dans leurs formes cutanée, oculaire ou nerveuse ; en revanche, l'oedème génital est plus caractéristique (TOURATIER, 1993).

Les infections du cheval par *T. cruzi* sont très mal documentées, les signes cliniques n'ayant pas été décrits précisément ; des études complémentaires sont donc nécessaires afin de déterminer le pouvoir pathogène de *T. cruzi* dans cette espèce.

Seul le diagnostic de laboratoire permettra de différencier ces infections, et même celui-ci est parfois difficile, voire impossible, notamment dans les cas d'infections par des souches akinétoplastiques de *T. equiperdum* ou *T. evansi* (TOURATIER, 1996), ou dans le cas d'infections mixtes.



#### 4.4.2 Trypanosomoses des ruminants

Sans le contexte épizootologique (par exemple la propagation de foyers de trypanosomose à *T. vivax* aux confins Bolivie-Paraguay-Brésil en 1996-97 lors d'une campagne de vaccination anti-aphteuse) et le recours au laboratoire, le diagnostic des hémoparasitoses des ruminants est hasardeux. En effet, les signes cliniques de la trypanosomose à *T. vivax*, anémie, chute de poids et asthénie, sont les mêmes que ceux des autres hémoparasitoses (trypanosomose à *T. evansi*, anaplasmose, babésioses...), de certaines helminthoses, voire certaines infections virales. Si la présomption est parfois forte, la confirmation par le laboratoire est toujours nécessaire, bien que rarement pratiquée. Pour ces raisons, il convient de rappeler brièvement les caractéristiques des autres hémoparasitoses des bovins, qui sont susceptibles d'interférer dans le diagnostic clinique, et, éventuellement, dans le diagnostic de laboratoire.

Bien qu'un *Eperythrozoon* sp., réputé non pathogène, ait été observé par FAVRE et SANITE (1985), sur un bovin splénectomisé, le parasite n'avait pas été rencontré depuis, jusqu'à une suspicion récente chez des chèvres (J. FAVRE, communication personnelle) ; son interférence potentielle serait donc faible.

*Theileria mutans*, observé en Guadeloupe (UILENBERG *et al.*, 1983) et en Martinique (ALONSO *et al.*, 1992), a été recherché au cours d'une enquête sérologique en Guyane Française (recherche d'anticorps); tous les sérums étaient négatifs (cf. chapitre deuxième), le parasite n'a jamais été observé dans le Département.

Les symptômes enregistrés chez les ruminants infectés par *T. vivax* ou *T. evansi* ont été décrits précédemment ; le diagnostic différentiel de ces deux infections est du ressort du laboratoire, et doit également être pris en compte.

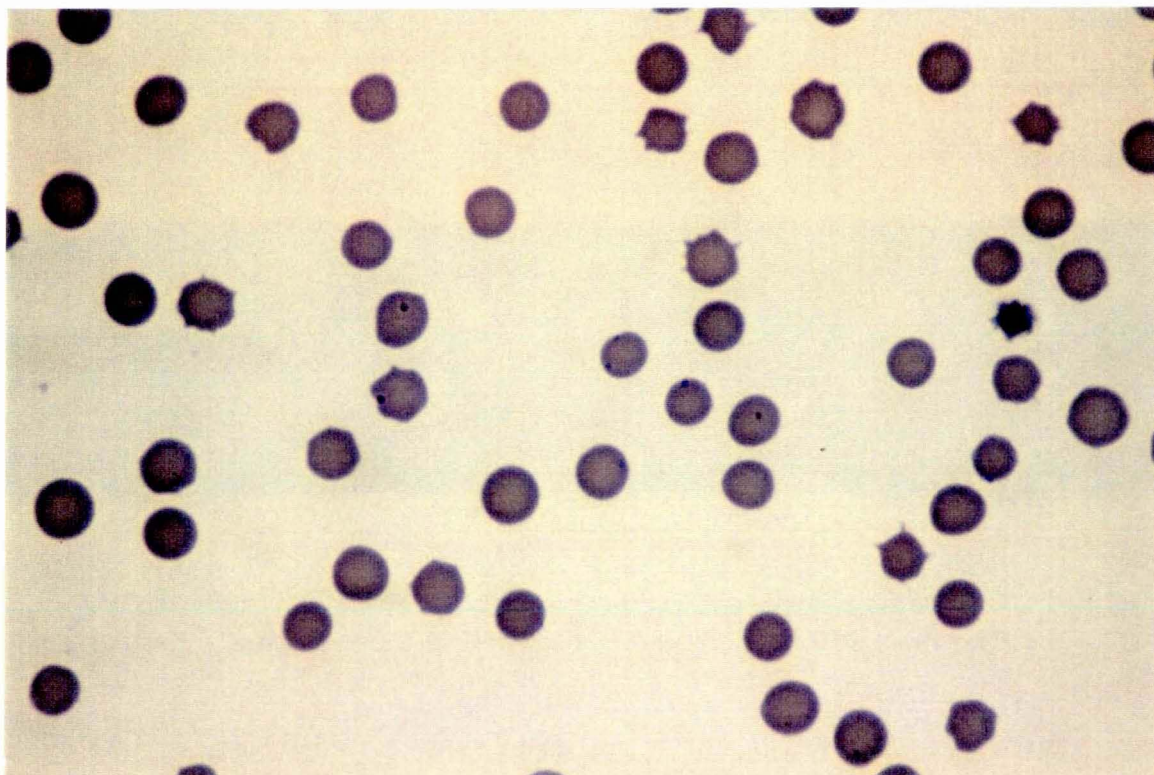
##### 4.4.2.1 *Ehrlichia bovis*

L'ehrlichiose bovine a été décrite pour la première fois au Brésil en 1982, par MASSARD et MASSARD (1982); elle y est transmise par *Amblyomma cajennense* (MASSARD, 1984). *Ehrlichia bovis* est un parasite des monocytes et des macrophages, parfois trouvé dans les lymphocytes (RIOCHE, 1967). Après une incubation de 1 à 3 semaines, les symptômes consistent essentiellement en une fièvre qui peut persister plus d'une semaine, accompagnée d'hypertrophie ganglionnaire, anorexie, apathie, chute de poids, et dépression immunitaire favorisant le développement de maladies intercurrentes (MASSARD, 1984, et ARAUJO, 1985 cité par UILENBERG, 1993). Le diagnostic peut être réalisé sur frottis, mais il existe de nombreux animaux porteurs sains (UILENBERG, 1993).

L'ehrlichiose peut donc être confondue et/ou superposée aux autres hémoparasitoses.

##### 4.4.2.2 *Anaplasma marginale*

L'anaplasmose est une maladie infectieuse, virulente, inoculable, non contagieuse, qui affecte les ongulés. Elle est due à une Rickettsiale, bactérie intracellulaire, du genre *Anaplasma*, qui parasite les globules rouges (**figure 8**); elle est transmise par des tiques, ou, d'une façon mécanique par des diptères piqueurs (taons, stomoxes). Il n'a pas été établi que les anaplasmes fussent transmis verticalement chez les tiques (transmission transovarienne), la transmission d'un bovin à l'autre ne serait donc assurée que par



**Légende :** *Anaplasma marginale* (grossissement X1000) ; parasitémie élevée ( $\geq 10$  parasites/ champ de microscope) observée sur un frottis de sang de bovin européen récemment importé en Guyane Française ; chez le bétail local les parasitémies sont beaucoup plus faibles et l'on observe rarement plus d'un parasite par champ, même en cas d'évolution clinique.

**Figure 8: *Anaplasma marginale* sur frottis coloré (original)**



les tiques qui changent d'hôte entre deux repas : transmission transstasiale ou intrastasiale. Chez la femelle de *Boophilus microplus* les changements d'hôte entre deux repas sont rares (MASON et NORVAL, 1981), en revanche, le changement d'hôte est plus important chez le mâle adulte ; il y aurait donc transmission intrastasiale d'un bovin à l'autre. Dans certains secteurs géographiques où les pullulations de Tabanidés sont très importantes, comme en Louisiane (WILSON, BRURNS *et al.*, 1963) et en Guyane Française (RAYMOND *et al.*, 1987), un rôle prépondérant est attribué à ces insectes dans la transmission de l'anaplasmose ; en revanche, l'apparition des signes cliniques d'anaplasmose serait liée à l'augmentation de la charge parasitaire par les tiques lors d'hyper-infestations.

L'anaplasmose est très largement répandue dans les élevages bovins guyanais, autant dans le cheptel zébu que dans celui originaire d'Europe, mais son incidence clinique confirmée par un examen de laboratoire est très faible chez les animaux natifs de Guyane. Elle sévit tout au long de l'année et s'exprime, chez les zébus, le plus souvent à la fin de la saison sèche, par des formes subaiguës ou chroniques touchant les animaux d'environ un an. Cliniquement, on observe une fièvre accompagnée d'inappétence, d'anémie et d'hypertrophie ganglionnaire, puis de constipation et d'amaigrissement persistant ; tableau clinique assez proche de celui de la trypanosomose à *T. vivax*.

Chez les bovins importés d'Europe, en l'absence de prophylaxie, l'anaplasmose aiguë touche près de 100% des animaux dans le mois qui suit leur arrivée, lorsqu'ils sont mis au contact d'animaux locaux. Les principaux symptômes observés sont la fièvre, avec polypnée et hyperthermie (40-41°C), une anémie prononcée (muqueuses couleur porcelaine, hématocrite inférieure à 15%, voire à 10%), et un très fort affaiblissement. En l'absence de traitement la mort survient rapidement. La trypanosomose bovine étant également très aiguë chez les animaux importés, la confusion est aisée.

Le diagnostic parasitologique individuel d'anaplasmose repose sur l'observation de frottis sanguins après coloration; il est facile sur le cheptel importé car les parasitémiés sont extrêmement élevées (**figure 8**), moins net dans le cheptel local. Le traitement recommandé est l'imidocarbe ou les tétracyclines par voie intraveineuse (oxytétracycline), suivi d'un relais longue action par voie intramusculaire. Certains éleveurs traitent à l'acéturate de diminazène; les résultats sont aléatoires. Lorsque l'anaplasmose est enzootique, elle peut précéder, accompagner, ou succéder à toute autre maladie, trypanosomose incluse, et rend le diagnostic d'autant plus confus que les produits de traitement de ces maladies sont parfois les mêmes (acéturate de diminazène).

En conclusion le diagnostic clinique de l'anaplasmose ainsi que son traitement entraînent des confusions fréquentes avec la trypanosomose à *T. vivax* chez les bovins.

#### **4.4.2.3 Babésioses bovines tropicales**

Les babésioses sont des maladies infectieuses, virulentes, inoculables, non contagieuses, qui affectent la plupart des mammifères domestiques. Elle sont dues à un sporozoaire du genre *Babesia*, localisé dans les globules rouges de l'hôte définitif, transmis par les tiques. En Amérique Latine, *Boophilus microplus* est le principal vecteur biologique des babésioses bovines tropicales; une partie du cycle de ce parasite se déroule obligatoirement chez le Boophile, qui est le réservoir naturel du germe. Il y a transmission transovarienne des parasites de la femelle du boophile à ses descendants, puis contamination des bovins par les larves ou la nymphe. En absence d'hôtes, l'existence des babésies est perpétuée sur une pâture par transmission verticale chez la tique. Il existe dans les Guyanes deux espèces de babésies



affectant les bovins, *B. bovis* et *B. bigemina*, transmises par *Boophilus microplus* ; elles engendrent une anémie, accompagnée de la libération d'hémoglobine à l'origine d'ictère (*B. bigemina*), ou de substances vasoactives qui peuvent engendrer un choc (*B. bovis*).

En Guyane Française, les babésioses cliniques confirmées au laboratoire sont très rares.

La babésiose à *B. bigemina* a été observée cliniquement sur du bétail européen (Brune des Alpes), avec des symptômes typiques: fièvre, anémie (hématocrite < 15%), ictère et coloration brune des urines (hémoglobinurie et bilirubinurie) (J. FAVRE, communication personnelle). Chez les zébus, seules des suspicions ont été faites dans des cas suraigus amenant rapidement à la mort. L'absence de confirmation par frottis ne permet pas de rapporter avec certitude ces cas à la babésiose.

La babésiose à *B. bovis* a été observée sur du bétail originaire d'Europe, avec fièvre et symptômes à dominante nerveuse : démarche vacillante, l'animal « pousse au mur ». Les symptômes circulatoires sont moins évidents: muqueuses normales, hématocrite supérieur à 15%. Enfin la maladie conduit rapidement à la mort. Le traitement recommandé est à base d'imidocarbe ou d'acéturate de diminazène.

Chez le bétail européen, les formes aiguës et suraiguës peuvent être confondues avec la trypanosomose, et chez le zébu, des formes chroniques sont soupçonnées, qui peuvent également être confondues avec la trypanosomose.

#### 4.4.2.4 Conclusion

Sur le terrain, dans des élevages bovins semi-extensifs ou extensifs, comme il est généralement pratiqué dans cette région du globe, le recours aux diagnostics de laboratoire est rare, et l'application précoce de traitements par les éleveurs interfère avec le diagnostic, d'autant plus que certains produits permettent d'obtenir des améliorations dans les cas de trypanosomose et babésiose (acéturate de diminazène), ou babésioses et anaplasmose (imidocarbe). Ce dernier produit semble même actif contre les trois hémoparasites puisque son efficacité a été démontrée contre *T. brucei* (NATHAN *et al.*, 1979), et observée sur *T. vivax* (CAMUS et MARTRENCAR, 1990). En outre, ces produits ont des effets généraux antibactériens et antiparasitaires qui peuvent conséquemment engendrer des améliorations passagères dans de très nombreux cas. Les améliorations cliniques qui suivent un quelconque traitement sont interprétées comme des confirmations du diagnostic (« diagnostic thérapeutique »). Dans tous les cas la guérison complète ne sera obtenue que si le traitement est parfaitement adapté à l'hémoparasite responsable des symptômes.

La trypanosomose bovine due à *T. vivax* peut cliniquement être confondue avec de nombreuses maladies des bovins; lorsqu'elle s'exprime par des symptômes d'anémie et d'affaiblissement, elle doit principalement être différenciée de la trypanosomose à *T. evansi*, de l'anaplasmose bovine (*Anaplasma marginale*), de la babésiose à *B. bigemina*, mais également de certaines helminthoses anémiantes comme l'haemonchose (*Haemonchus contortus*), et, au Brésil, de l'ehrlichiose bovine.

Lorsque la trypanosomose bovine s'exprime par des symptômes nerveux, elle doit être différenciée de la rage et de la babésiose à *B. bovis*, voire d'éventuelles intoxications fourragères qui peuvent être dues à des nitrates (*Brachiaria* sp. var. tanner), des alcaloïdes (*Datura stramonium*), l'acide monofluoroacétique (*Palicourea* spp.), des hétérosides (*Asclepias currassavica*), etc. (CORMIER, 1991). Seuls les études de terrain et les examens de laboratoire permettent la distinction de ces affections.



Chez les buffles la confusion entre les infections à *T. vivax* et *T. evansi* est particulièrement facile car la réceptivité des animaux aux deux parasites est assez voisine.

Dans le contexte latino-américain où tout ou partie de ces infections et/ou affections sont possibles, pour évaluer l'importance relative d'une hémoparasitose, et de la trypanosomose en particulier, lors des études épidémiologiques, il est impératif de s'intéresser à l'ensemble des hémoparasites présents. C'est une des raisons pour lesquelles l'enquête épidémiologique sur la trypanosomose bovine menée en Guyane Française en 1991-92 (Chapitre 2, §1) a été étendue à l'ensemble des hémoparasites.

## **5 EPIDEMIOLOGIE GENERALE ET IMPORTANCE DES TRYPANOSOMOSES DU BETAIL EN AMERIQUE LATINE**

Le point sur les observations épidémiologiques réalisées sur les trypanosomoses du bétail en Amérique Latine, leurs distribution et prévalences sont présentés. L'importance économique et les nombreuses interrogations concernant la présence et la prévalence de la maladie et/ou de l'infection chez les hôtes, les réservoirs et les vecteurs sont soulignées. Ce bilan sera à l'origine d'une partie des recherches entreprises dans le cadre du présent travail.

### **5.1 *T. VIVAX* ET *T. EVANSI***

Comme le signalait VOKATY (1994): « Contrairement aux trypanosomoses en Afrique, très peu de choses ont été publiées sur la distribution géographique, les vecteurs, les réservoirs, l'importance clinique et économique des trypanosomoses non transmises par les glossines dans le Nouveau Monde ».

Si l'on met à part les observations antérieures à 1950, dont beaucoup n'ont pas été confirmées, peu de données récentes et objectives sont disponibles. Certaines zones géographiques ont fait l'objet d'études particulières permettant de définir des régions enzootiques ou épizootiques, mais la frontière entre ces deux statuts est parfois fragile.

Une étude par pays est présentée ci-après, selon les informations collectées dans la littérature scientifique. En 1995-96, une lettre circulaire a été adressée par l'EMVT à des chercheurs ou des représentants d'organismes officiels de la santé animale dans tous les pays d'Amérique Latine (Caraïbes incluses), qui a permis de compléter les données collectées dans la littérature ; les informations transmises sont référées comme communications personnelles.

#### **5.1.1 Colombie**

##### ***T. vivax***

Dans une enquête sérologique sur l'ensemble du pays, WELLS (1977 a) indique que 48,2% des échantillons étaient positifs. Le développement des techniques de diagnostic par immunofluorescence indirecte (IFI) (PLATT et ADAMS, 1976) et l'utilisation des techniques de centrifugation capillaires (BETANCOURT et JULIO, 1979) ont permis de connaître de manière relativement satisfaisante la situation épidémiologique des trypanosomoses en Colombie (WELLS *et al.*, 1982 a et b; OTTE *et al.*, 1994). *T. vivax* est enzootique dans l'ensemble du pays, en-dessous de 1000 m d'altitude (MATEUS *et al.*, 1992); au-dessus, sa présence est sporadique, probablement liée à des mouvements de bétail depuis la zone enzootique, et des pullulations temporaires d'insectes hématophages, Tabanidés en particulier (MATEUS et

GONZALEZ, 1991). Sur la côte atlantique OTTE *et al.* (1992) observent une liaison entre la prévalence de *T. vivax*, la proximité des marais, et l'abondance des Tabanidés, notamment de l'espèce *T. nebulosus*. Lors de l'épizootie qu'ils ont observée, MATEUS et GONZALEZ (1991) décrivent une morbidité de 30% et une mortalité de 6 à 7%, avec environ 3% d'avortements, et des convalescences très longues. Les observations de OTTE *et al.* (1988) sur la côte Nord du pays, montrent une augmentation de l'incidence des infections en fin de saison des pluies (octobre), quand l'abondance des Tabanidés (*T. claripennis*) est grande; dans cette étude, l'incidence de la parasitémie visible (technique de centrifugation hématocrite : HCT) était hautement variable, allant de 0 à 23% voire 61% selon les fermes. WELLS (1984) indique que la séroprévalence est également très variable selon les troupeaux, de 15 à 90%. De même, avec une séroprévalence globale régionale de 51% et une incidence globale nulle, WELLS *et al.* (1982 b) observent une séroprévalence par troupeau variant de -20% à +30%, ce qui signe l'aspect instable de l'enzootie et le caractère épizootique des infections.

Dans l'ensemble, les auteurs s'accordent sur l'importance relative de cette maladie, classée troisième fléau de l'élevage en Colombie, après la douve et les autres hémoparasitoses et leurs vecteurs (WELLS *et al.*, 1982 a), mais ils s'accordent aussi sur le fait que l'épidémiologie est insuffisamment documentée (OTTE, 1985). OTTE *et al.* (1986) observent très peu d'insectes piqueurs dans un troupeau où l'incidence apparente de l'infection est de 100%; l'observation de *T. vivax* dans les pièces buccales, les ovaires et les glandes salivaires de *Boophilus microplus* permet de ne pas exclure son rôle éventuel de vecteur (LOPEZ *et al.*, 1979); certaines infections sont totalement asymptomatiques, d'autres sont mortelles (DIRIE *et al.*, 1993 b), enfin, le manque de sensibilité des techniques de diagnostic parasitologique, et le manque de spécificité des techniques de diagnostic sérologique ne facilitent pas l'interprétation des études (AGUDELO *et al.*, 1984).

### **T. evansi**

*T. evansi* sévit chez les chevaux sous forme de foyers épizootiques dans l'ensemble du pays, sous les climats tropicaux et subtropicaux. WELLS *et al.* (1982 a) décrivent une épizootie dans les plaines du Nord en 1968. Les capybaras, régulièrement trouvés infectés (REVERON *et al.*, 1992), et, peut-être les chiens, sont considérés comme les réservoirs du parasite; les Tabanidés et les vampires en seraient les vecteurs (WELLS, 1984). L'impact économique de la trypanosomose du cheval n'est pas documenté, mais doit être élevé car la mortalité est forte lors des épizooties. Aucune enquête sérologique n'a permis d'établir la prévalence de la maladie. Une importante épizootie a sévit en 1990-91 chez les chevaux, dans les plaines orientales (OTTE, cité par TOURATIER, 1993).

Enfin, la prévalence et l'impact chez les ruminants domestiques n'ont jamais été étudiés.

### **5.1.2 Venezuela**

Le Venezuela compte 18 millions (M) de bovins, 1,1M de moutons, 1,3M de chèvres et 0,15M de buffles; l'essentiel des mouvements d'animaux se font à l'ouest du pays, à la frontière de la Colombie, dans les deux sens (ESPINOZA, communication personnelle).

### **T. vivax**

Lors d'une enquête parasitologique dans des fermes où des symptômes de trypanosomose étaient observés, CLARKSON *et al.* (1971 a) trouvent 10 à 15% d'animaux infectés. TORO *et al.* (1980 et 1983 a)



utilisent l'hémagglutination passive et l'agglutination capillaire pour réaliser une enquête épidémiologique chez les bovins, la prévalence moyenne est de 25,5%, l'infection étant répartie sur l'ensemble du pays, sans distinction d'âge, de race, et de type élevage; la prévalence par état varie de 17% dans l'État de Guarico à 40% dans l'État voisin d'Apure. Les séroprévalences par état sont indiquées à la **figure 9 a**, et les secteurs enzootiques, épizootiques ou non infectés, sont indiqués à la **figure 9 b**.

Dans l'État de Guarico, une étude plus récente, menée par TAMASAUkas (1992), en IFI, montre une prévalence moyenne de 35% chez les bovins; l'écart entre municipalités s'étend de 17% à 55% TAMASAUkas (1995). L'étude de PERRONE *et al.* (1992), montre une grande différence entre sérologie et parasitologie: le parasite est rarement observé, mais la prévalence des anticorps est de 10% chez les jeunes, à 80% chez les animaux de plus de 36 mois. DUNO *et al.* (1992) dans une étude concernant 60 fermes de l'état de Falcon (côte Nord), signalent que 1% des bovins sont trouvés porteurs du parasite (HCT) et 57,8% porteurs d'anticorps (IFI); aucune association n'a été trouvée entre prévalence et âge ou sexe, mais la prévalence dans les troupeaux laitiers était significativement supérieure (66%) à celle des troupeaux à viande (50%).

Une étude sérologique récente de la trypanosomose bovine par recherche d'anticorps (ELISA-indirecte) a montré des séroprévalences très variables (0 à 87% selon la région étudiée), et généralement supérieures à 35% dans les États de Zulia, Falcon et Guarico (ROSSI *et al.*, 1995).

### **T. evansi**

Une étude parasitologique récente montre 12% de chevaux porteurs du parasite, tandis que la sérologie par IFI révèle 69% d'animaux positifs (GARCIA et ASO, 1992). La première utilisation d'un test ELISA-indirecte de détection des anticorps dirigés contre *T. evansi* chez le cheval est très récente, puisqu'elle est rapportée par REYNA *et al.* en 1992. Les prévalences détectées étaient très élevées, 82% chez les chevaux sauvages, et 57% chez les chevaux d'élevage; seuls les chevaux de courses n'étaient pas infectés. Dans l'état d'Apure, au Sud-Est du Venezuela, une étude sérologique chez les capybaras donne des résultats positifs chez 14% des jeunes, et 83% des adultes (REVERON *et al.*, 1992); le rôle de la faune sauvage dans l'épidémiologie de la trypanosomose équine au Venezuela est probablement très important; toutefois, le rôle relatif de réservoir des bovins, chiens et capybaras n'est pas parfaitement élucidé.

La trypanosomose à *T. evansi* est considérée comme enzootique dans toutes les plaines du Venezuela (WELLS, 1984). Les secteurs enzootiques, épizootiques ou non infectés sont indiqués par état à la **figure 9 b**, d'après ESPINOZA (communication personnelle).

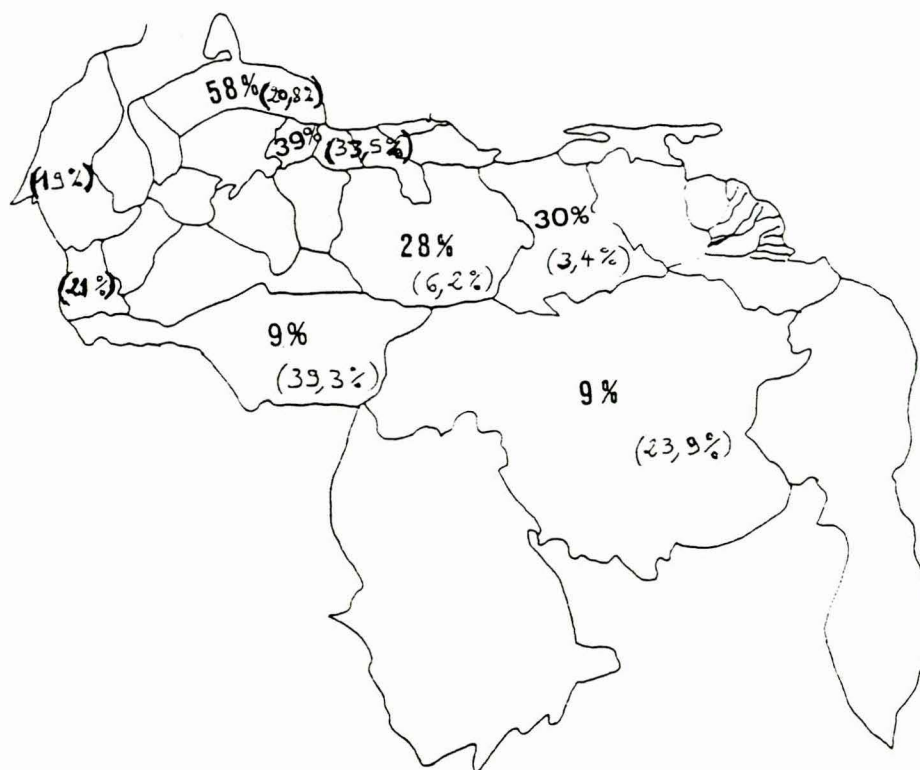
Bien qu'aucun réseau d'épidémio-surveillance ne permette de suivre l'évolution de la situation, *T. vivax* et *T. evansi* sont considérés comme enzootiques dans la majeure partie du pays.

### **5.1.3 Nord-Est du Brésil**

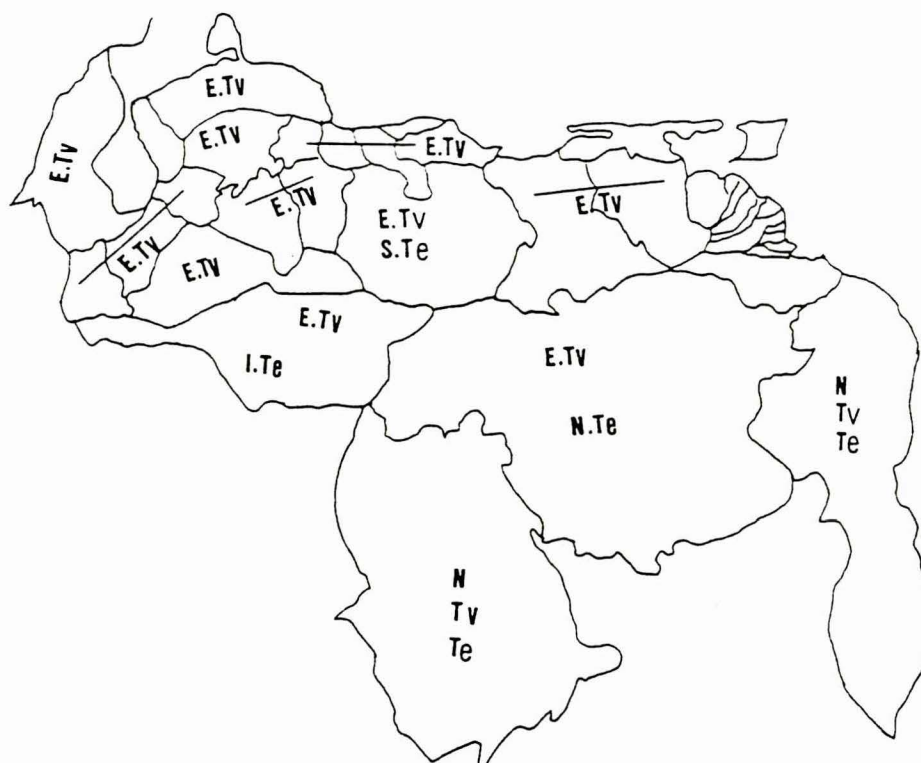
On entend par « Nord-Est du Brésil » la partie du Brésil appartenant au Plateau des Guyanes, située au Nord des fleuves Amazone et Rio Negro.

### **T. vivax**

Signalé pour la première fois sur l'île de Marajo (FLOCH et LAJUDIE, 1944), *T. vivax* est ensuite retrouvé dans le Territoire Fédéral d'Amapa (SOUZA, 1980). SERRA FREIRE (1984) et PEREIRA et



**Figure 9 a : Séroprévalences régionales de *T. vivax* chez les bovins au Venezuela, d'après ESPINOZA (communication personnelle) et TORO (1990) (séroprévalences selon TORO indiquées entre parenthèses)**



**Légende :** Tv : *T. vivax* ; Te : *T. evansi* ; E : enzootique ; I : épizootique ; N : non infectés. Les barres reliant les États signifient que leurs situations épidémiologiques sont identiques.

**Figure 9 b : Distribution géographique de *T. vivax* et *T. evansi* au Venezuela, d'après ESPINOZA (communication personnelle)**

**Figure 9: Distribution géographique et séroprévalence de *T. vivax* et *T. evansi* au Venezuela**



ABREU (1979) indiquent la présence de *T. vivax* respectivement chez les buffles et les bovins, et chez les buffles et les ovins. DIDONET-LAU et LAU (1988) signalent même des cas mortels chez le buffle. Lors d'une enquête parasitologique dans le Territoire Fédéral d'Amapa, SERRA FREIRE *et al.* (1981) trouvent des prévalences de 20 à 40% chez les buffles; lors d'une autre enquête dans le même secteur SERRA FREIRE (1984) trouve 8,9% de buffles et 7,6% de bovins infectés. La plupart des animaux de cette région sont originaires du Matto Grosso et de l'état du Para, où la prévalence des infections est élevée (SERRA FREIRE *et al.*, 1981). L'information disponible sur l'élevage dans l'État du Roraima est très limitée; cette région Nord du Brésil est réputée infectée par *T. vivax* et *T. evansi*. L'impact de la maladie est peu connu dans cette partie du Brésil.

### **T. evansi**

Découvert très tôt sur la île de Marajo (HOARE, 1972), *T. evansi* est très probablement présent dans ce secteur du Brésil, où il est principalement hébergé par des buffles. Une documentation récente de la maladie dans ce secteur fait malheureusement défaut, aucun contact n'ayant pu être établi avec les responsables des Services Vétérinaires.

## **5.1.4 Guyanes**

### **5.1.4.1 Guyana**

En 1975, des examens hématologiques ont permis de diagnostiquer des infections à *T. vivax* chez 6 bovins sur 1019 testés (CRAIG, 1975, cité par APPLEWHAITE, 1990). L'étude parasitologique (HCT) réalisée par APPLEWHAITE (1990) fait état de 4,6% et 1,3% d'infections chez 197 moutons et 77 chèvres testés.

Plus récemment, une étude sérologique chez 161 moutons de la région côtière de Mahaica/Berbice, réalisée par IFI vis-à-vis de *T. vivax* et *T. evansi*, indique 64% d'animaux positifs à l'un au moins des tests, 6,8% le sont vis-à-vis de *T. vivax* seul, et 23,6% pour *T. evansi* seul. Pour la première fois la présence de *T. evansi* est sérologiquement soupçonnée au Guyana, mais l'existence de réactions croisées entre ces espèces ne permet pas encore de conclure sur la présence du parasite (VOKATY *et al.*, 1993).

### **5.1.4.2 Suriname**

Bien que quelques informations non publiées aient circulé depuis le rapport de NIESCHULZ (cité par HOARE, 1972) sur *T. vivax*, l'existence des trypanosomoses au Suriname n'a quasiment pas été documentée. Pendant les nombreuses années où la guerre civile a sévi, aucune information n'a pu être collectée sur le terrain, ni aucun diagnostic effectué au laboratoire. Seule une récente enquête réalisée en 1992 par VAN VLAENDEREN (1996) a permis de diagnostiquer la présence de *Megatrypanum* species dans 11% des 513 échantillons prélevés à l'abattoir. La présence de *T. evansi* au Suriname est encore hypothétique ; elle a été rapportée par PCR, sans isolement du parasite (VAN VLAENDEREN, 1996)

### **5.1.4.3 Guyane Française**

Selon une pré-enquête réalisée en Guyane Française, en 1984, par CAMUS *et al.* (1987), portant sur 328 sérums de bovins, la séroprévalence des anticorps (IFI) dirigés contre *T. vivax* était de 35%. Des résultats positifs ont été obtenus dans presque toutes les zones d'élevage du Département.

Quelques sérologies positives pour *T. evansi* avaient également été trouvées avec le CATT test<sup>ND</sup> (TOURATIER, 1992 b). Lors d'une enquête sérologique chez les bovins (IFI), CAMUS et CREPIN (1990) font état de 32% de positifs pour *T. vivax* et 34% pour *T. evansi*, avec 3% d'échantillons présentant un titre d'anticorps pour *T. evansi* supérieur à celui pour *T. vivax*. La spécificité des tests utilisés n'est pas suffisante pour affirmer l'existence du parasite en Guyane Française, d'autant qu'aucune suspicion clinique d'infection à *T. evansi* n'a jamais été signalée. Dans cette même étude, un échantillon d'agouti a été trouvé positif pour *T. vivax* en réaction de fixation du complément. Le parasite n'a pas été isolé.

Pour les trois Guyanes, la nécessité de réaliser des enquêtes épidémiologiques sur les trypanosomoses (et autres hémoparasitoses) est apparue évidente devant la faible information disponible, l'existence même de *T. evansi* étant incertaine.

### 5.1.5 Autres pays d'Amérique Latine

#### 5.1.5.1 *T. vivax*

Sur la base d'enquêtes sérologiques, la distribution de *T. vivax* s'étendrait du Paraguay à El Salvador (WELLS *et al.*, 1977 a et c); toutefois, la limite nord de sa distribution reste à définir. Si l'enquête menée par FERRIS (1984) a révélé l'existence de sérologies positives (IFI) sur antigènes de *T. vivax* chez le lama et l'alpaga au Chili, il a par la suite enregistré sur ces mêmes échantillons, des titres supérieurs vis-à-vis de *T. b. brucei*, ce qui l'a amené à conclure à une infection par *T. evansi* plutôt que par *T. vivax*, bien que l'alpaga et le lama soient sensibles aux deux parasites (GARDINER et MAHMOUD, 1990). Selon MONTOYA BECERIA, ces réactions se sont avérées faussement positives, car négatives en utilisant un conjugué homologue; en revanche, il n'exclut pas l'interférence due à *T. cruzi*. *T. vivax* ne serait donc pas signalé au Chili (MONTOYA BECERIA, C., communication personnelle).

L'Argentine compte 53M de bovins et 30M de moutons (MONZON, communication personnelle); *T. vivax* n'a pas été isolé dans ce pays, mais BAKOS *et al.* (1992) ont récemment observé chez un zébu un parasite très mobile, présentant les caractéristiques morphologiques de *T. vivax*. L'identification du parasite reste à confirmer.

*T. vivax* est présent en Équateur et en Bolivie (CLARKSON, 1976). L'enquête sérologique de WELLS *et al.* (1977 a) a fourni les séroprévalences suivantes (entre parenthèses figure le nombre d'échantillons testés): 40% (15) au Paraguay, 22,5% (310) en Équateur, et 14,3% (49) au Pérou. Il faut toutefois noter que la technique d'immunofluorescence utilisée dans cette enquête ne permet pas de distinguer les infections dues à *T. vivax* de celles dues à *T. evansi* (GARDINER et MAHMOUD, 1990). En Bolivie, à l'Est du pays, dans le Département de Santa Cruz, le parasite a été identifié sur frottis dans 4 cas chez des bovins au cours du premier trimestre 1996, et, ce qui mérite attention, dans un cas chez un chien (AGUIRRE BOVAYES, communication personnelle).

Au Brésil, outre le secteur géographique déjà étudié, *T. vivax* a été signalé dans le Matto Grosso (HOARE, 1972) et dans la partie de l'état du Para située au sud de l'Amazone (Belém) (SHAW et LAINSON, 1972). LANHAM *et al.* (1981) décrivent la maladie chez les buffles, pour lesquels *T. vivax* reste peu pathogène, mais les buffles constituent un réservoir potentiel important. Selon SERRA FREIRE *et al.* (1981) 31% des buffles sont infectés par *T. vivax* dans l'état du Para. L'enquête sérologique (IFI) menée dans le Matto Grosso par WELLS *et al.* (1977 a) a montré 54% d'animaux positifs sur 666 testés. Plus récemment,



une épizootie a été décrite par SILVA *et al.* (1995 e) dans le Nord du Pantanal; cette épizootie signe une extension géographique de la maladie vers le Sud du Brésil. L'impact économique des trypanosomoses au Brésil est peu connu et peu documenté, mais il suscite un intérêt croissant ; en témoigne la récente étude réalisée par P. STEVENSON (1995), consultant du KETRI<sup>7</sup>, dans le cadre d'une action commune de l'EMBRAPA<sup>8</sup> et de l'IICA<sup>9</sup>. Les principales conclusions de cette étude menée dans le Pantanal font état d'un impact clinique important et de la nécessité de réaliser des études épidémiologiques sur cette maladie qui expose 5M de bovins dans le Pantanal ; son extension vers les régions centre et sud du Brésil semble en cours, elle exposera 40 millions de bovins (R.A.M.S. SILVA, communication personnelle).

En 1996-97, de nouveaux foyers de trypanosomose à *T. vivax* ont été signalés par R.A.M.S. SILVA aux frontières du Brésil, de la Bolivie et du Paraguay, signant une extension vers l'ouest et le sud (L. TOURATIER, communication personnelle).

*T. vivax* n'est identifié au **Panama** qu'en 1940, par JOHNSON (1941), alors que la prévalence est déjà de 5 à 50% selon les troupeaux. Cette découverte tardive montre le peu d'investigations préalables. Aucune donnée plus récente n'a été trouvée dans la littérature, et les Services Vétérinaires du Panama reconnaissent ne pas posséder les informations, d'autant qu'ils ne disposent, techniquement, que du diagnostic parasitologique; quoiqu'il en soit, l'impact des trypanosomoses est considéré comme hautement significatif par les autorités sanitaires (Dr EVANS, communication personnelle).

Sans isolement des parasites, la sérologie a révélé 15 animaux positifs sur 100 à **El Salvador** et 44 sur 192 (22,9%) au **Costa Rica** (WELLS *et al.*, 1977 a). Dans ces pays l'existence de *T. vivax* n'a pas été confirmée par l'isolement du parasite.

*T. vivax* est présent à **Cuba** (CORDOVES et GONZALES BROCHE, 1978, cités par CORDOVES *et al.* 1982). Sa disparition probable des **Antilles françaises** depuis les années 40, supposée par MOREL (1967), a été récemment confirmée, pour la Martinique, par ALONSO *et al.* (1992), qui n'ont pas retrouvé de trace sérologique du parasite en IFI.

Une enquête par ELISA-indirecte menée dans les **Caraïbes** par FERENC *et al.* (1990) n'a révélé qu'une très faible séroprévalence dans les îles, avec seulement deux échantillons fortement positifs à Montserrat et St Martin. Des communications personnelles nous ont été transmises signalant que les trypanosomes pathogènes du bétail sont absents de Puerto Rico, des U.S. Virgin Islands (BOKMA, B. H.), et de Jamaïque (LAZARUS, C.).

D'après des documents élaborés par le CARAPHIN<sup>10</sup>: « CARAPHIN Animal Health » (Anonyme, 1993 et 1994), les trypanosomes du bétail sont absents dans les pays dont la liste suit :

**Antigua & Barbuda, Bahamas, Barbados, Belize, Dominique, Grenada, Montserrat (?), British Virgin Islands, S<sup>t</sup> Kitts & Nevis, S<sup>t</sup> Lucia, S<sup>t</sup> Vincent & Grenadines, Trinidad & Tobago.**

Le **Mexique** compte plus de 35M de bovins, 6M d'ovins, 9,3M de caprins et 5,4M de chevaux; selon IRASTORZA, J. M. E. (communication personnelle) *T. vivax*, *T. evansi* et *T. equiperdum* n'ont jamais été signalés. En 1995, en l'absence de signes cliniques, des sérologies d'anticorps positives (RFC) pour *T. equiperdum* ont été obtenues sur des chevaux et des mules de l'État de Chihuahua destinés à l'exportation

<sup>7</sup> Kenya Trypanosomiasis Research Institute (Nairobi, Kenya)

<sup>8</sup> Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

<sup>9</sup> Inter-American Institute for Cooperation in Agriculture

<sup>10</sup> Caribbean Animal and Plant Health Information Network

aux USA; ces échantillons, testés en inhibition d'hémagglutination pour *T. cruzi* étaient également positifs (RUBI, E. communication personnelle). Les animaux positifs ont été abattus, mais l'infection n'a jamais été démontrée ; en outre, les investigations menées parmi 3000 équidés de cet État n'ont pas permis d'isoler d'agent ou d'observer des signes cliniques de dourine; le Mexique s'est déclaré indemne de dourine depuis avril 1996 (anonyme, OIE, 1997) .

Il apparaît probable que des interférences avec *T. cruzi* ou *T. evansi* puissent être responsables de croisements sérologiques. La circulation de *T. cruzi* au Mexique est avérée, même dans les zones urbaines, une récente enquête sérologique a montré que 8,8% à 24,2% des chiens étaient infectés (GARCIA-VAZQUEZ *et al.*, 1995). Ici encore, la spécificité des tests de détection des anticorps fait cruellement défaut. D'autre part la barrière sanitaire forte (et justifiée) imposée par les USA n'est pas favorable à la déclaration officielle de la présence des trypanosomes du bétail au Mexique.

La littérature scientifique et les demandes directes d'information n'ont pas permis d'établir ou de mettre à jour les données concernant la situation épidémiologique des trypanosomes pathogènes du bétail dans certains pays d'Amérique Latine: Uruguay, Nicaragua, Honduras et Guatemala.

Partant des données de la littérature et des communications personnelles qui nous ont été transmises, la distribution géographique de *T. vivax* en Amérique Latine est indiquée à la **figure 10 a**.

#### **5.1.5.2 *T. evansi***

Selon HOARE (1965), la distribution de la trypanosomose à *T. evansi* serait superposée à celle des vampires. *T. evansi* serait présent sur le continent américain, de l'Argentine au Panama; toutefois, la limite nord de sa distribution reste à définir.

Le **Chili** compte 3,4M de bovins, 4,8M d'ovins, 0,35M de chevaux et 72.000 Camélidés (lamas et alpagas); le parasite n'est pas signalé dans ce pays (MONTROYA BECERIA, communication personnelle), mais des sérologies *Trypanosoma* sp. positives ont déjà été signalées (FERRIS, 1984).

L'**Argentine** compte 2M de chevaux (MONZON, communication personnelle); la détection des anticorps par IFI indique 13 à 20% d'animaux positifs dans la Province de Chaco (BAKOS et BUSTAMANTE, 1982); une autre enquête menée entre 1983 et 1987 dans la province de Formosa fournit 20% d'animaux positifs (MONZON et COLMAN, 1988) et, lors d'une épizootie, la seule centrifugation capillaire permet de diagnostiquer 90 animaux infectés sur 137 testés (MONZON *et al.*, 1995 a); les auteurs précisent que 57.000 chevaux sont exposés à l'infection dans cette province.

Au **Brésil**, outre le secteur géographique déjà étudié, FRANKE *et al.* (1994) ont réalisé une enquête dans le Pantanal (Matto Grosso), où l'implantation enzootique de *T. evansi* dépend en partie de la faune sauvage; leur étude a révélé la présence d'anticorps par ELISA-indirecte chez 9,6% des chevaux, 4,2% des bovins, 18,6% des chiens et 14% des capybaras; toutefois le test utilisé ne permet pas de différencier ces réponses de celles dirigées contre *T. vivax* (ROSSI *et al.*, 1995). NUNES et OSHIRO (1990) ont trouvé le parasite chez les chiens, les coatis et les capybaras. L'enquête menée par STEVENS *et al.* (1989) a révélé des séroprévalences de 27% et 58% chez les capybaras sauvages ou en semi-liberté.



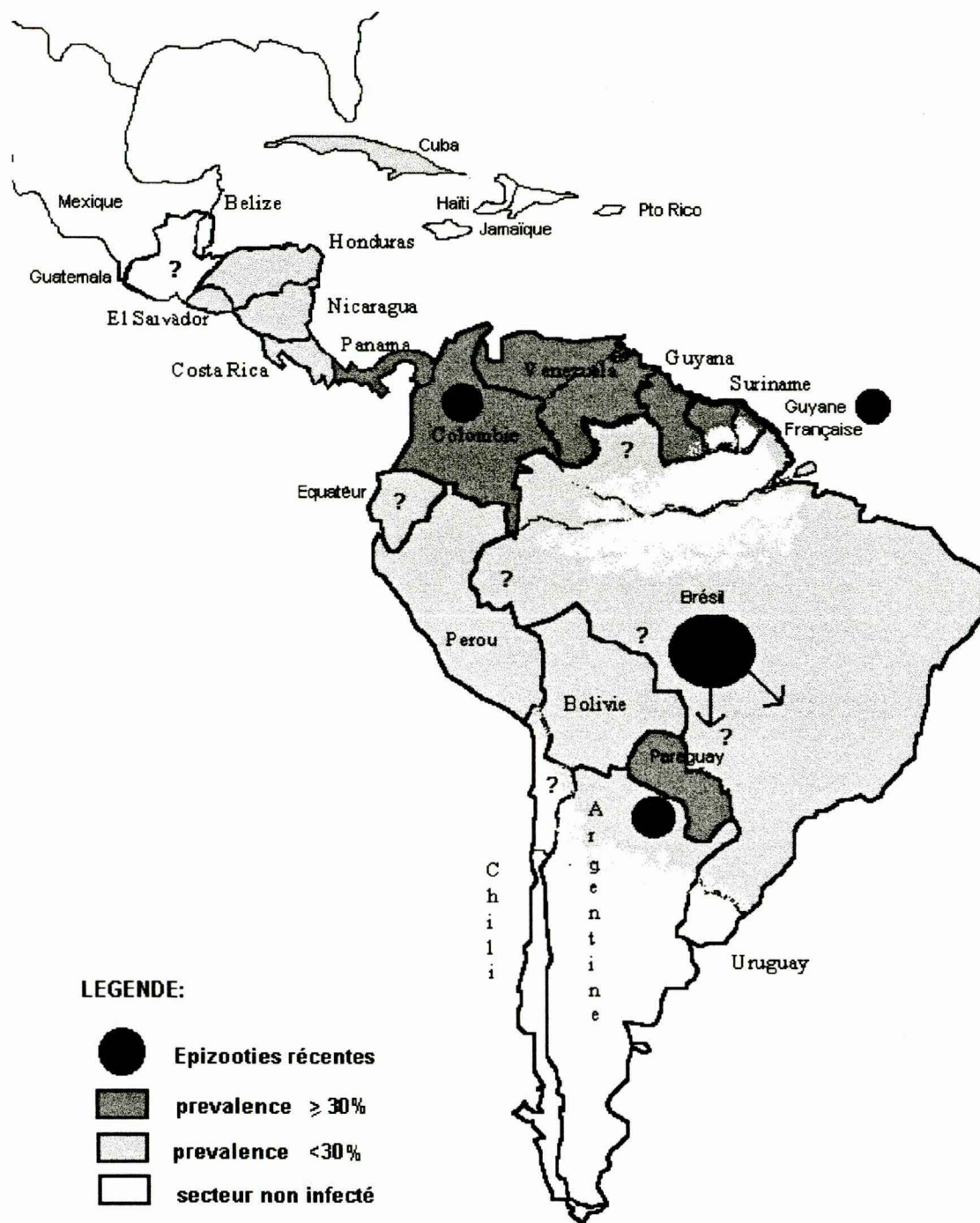


Figure 10 a: Distribution géographique de *T. vivax* en Amérique Latine  
(DESQUESNES et GARRAIN, 1997 a)

En 1994, une épizootie a été signalée par SILVA *et al.* (1995 a) dans le Pantanal, avec des morbidité et mortalité très élevées chez les chevaux, atteignant respectivement 97% et 83%; quatre chiens prélevés à la même occasion étaient également infectés. Leur rôle de réservoir doit être envisagé.

*T. evansi* a été signalé en **Bolivie**, au **Paraguay** et au **Pérou** (CLARKSON, 1976), mais peu d'informations récentes sont disponibles. En Bolivie, 17 cas de trypanosomose équine ont été identifiés en 1995 au Nord-Est du pays, dans le département de Beni (AGUIRRE BOVAYES, communication personnelle). *T. evansi* n'a pas été signalé au Nord du **Panama**, mais les informations sont frustes.

Enfin, *T. evansi* n'est pas signalé dans les **Caraïbes** ni au **Mexique** selon IRASTORZA, J. M. E. (communication personnelle) ; HOARE (1972) mentionne pourtant l'existence de *T. evansi* au Mexique et dans toute l'Amérique Centrale.

Partant des données de la littérature et des communications personnelles qui nous ont été transmises, la distribution géographique de *T. evansi* en Amérique Latine est indiquée à la **figure 10 b**.

Pour *T. evansi* comme pour *T. vivax*, la distribution géographique est très incertaine en Amérique Centrale et au Mexique.

## 5.2 AUTRES TRYPANOSOMES

L'extension géographique de *T. equiperdum* en Amérique a été aussi vaste que celle de *T. evansi* puisque la maladie a été signalée au début du siècle du Chili au Canada. En 1976, *T. equiperdum* n'était plus signalé qu'au Paraguay et en Bolivie (CLARKSON, 1976). La réelle distribution de *T. equiperdum* n'est pas connue, notamment du fait de certaines confusions cliniques avec *T. evansi*, et en raisons des entraves commerciales entraînées par la déclaration de la maladie.

*Trypanosoma theileri* est cosmopolite, sa prévalence en Amérique Latine est très peu documentée; la récente enquête réalisée au Suriname par diagnostics parasitologiques (HCT et DG/BCM) a montré une prévalence de 11,9% (VAN VLAENDEREN, 1996); celle réalisée en Argentine (MONZON *et al.*, 1993) montre une prévalences de 6,7%. En réalité, après un bref pic parasitémique suivant l'infection, la parasitémie est généralement très basse, et de nombreuses infections passent inaperçues lors du diagnostic parasitologique par observation directe du parasite, même après enrichissement (HCT). Par hémoculture, FOIL signale que la presque totalité des bovins testés en Louisiane sont porteurs du parasite (communication personnelle) ; de même en Afrique, 71% des animaux testés par hémoculture sont positifs (TOURE, 1977). Avec l'HCT la plupart des auteurs ne trouvent que 3 à 30% d'animaux infectés, quel que soit le pays où les travaux sont menés. Le taux de portage de *T. theileri* serait donc considérablement sous-estimé du fait de la faible sensibilité de la technique de diagnostic généralement utilisée. Un animal expérimentalement infecté restant porteur pendant plus d'un an (LAVERAN et MESNIL, 1912 et HORNBY, 1953, d'après HOARE, 1972), il est probable que, dans les zones d'élevage, la durée du portage associée aux inoculations par les taons, provoquent une prévalence des infections voisine de 100%, comme il a été observé lors des enquêtes par hémoculture.

*T. ingens* a récemment été observé pour la première fois en Amérique Latine, au Suriname (VAN VLAENDEREN, 1996) ; l'auteur signale que, lors de son étude parasitologique chez les bovins du Suriname, sur 513 échantillons, 56 présentaient des *T. theileri* et un seul présentait des *T. ingens*. Selon cette étude, *T. ingens* serait peu abondant par rapport à *T. theileri*. Sa distribution en Amérique n'est pas connue.



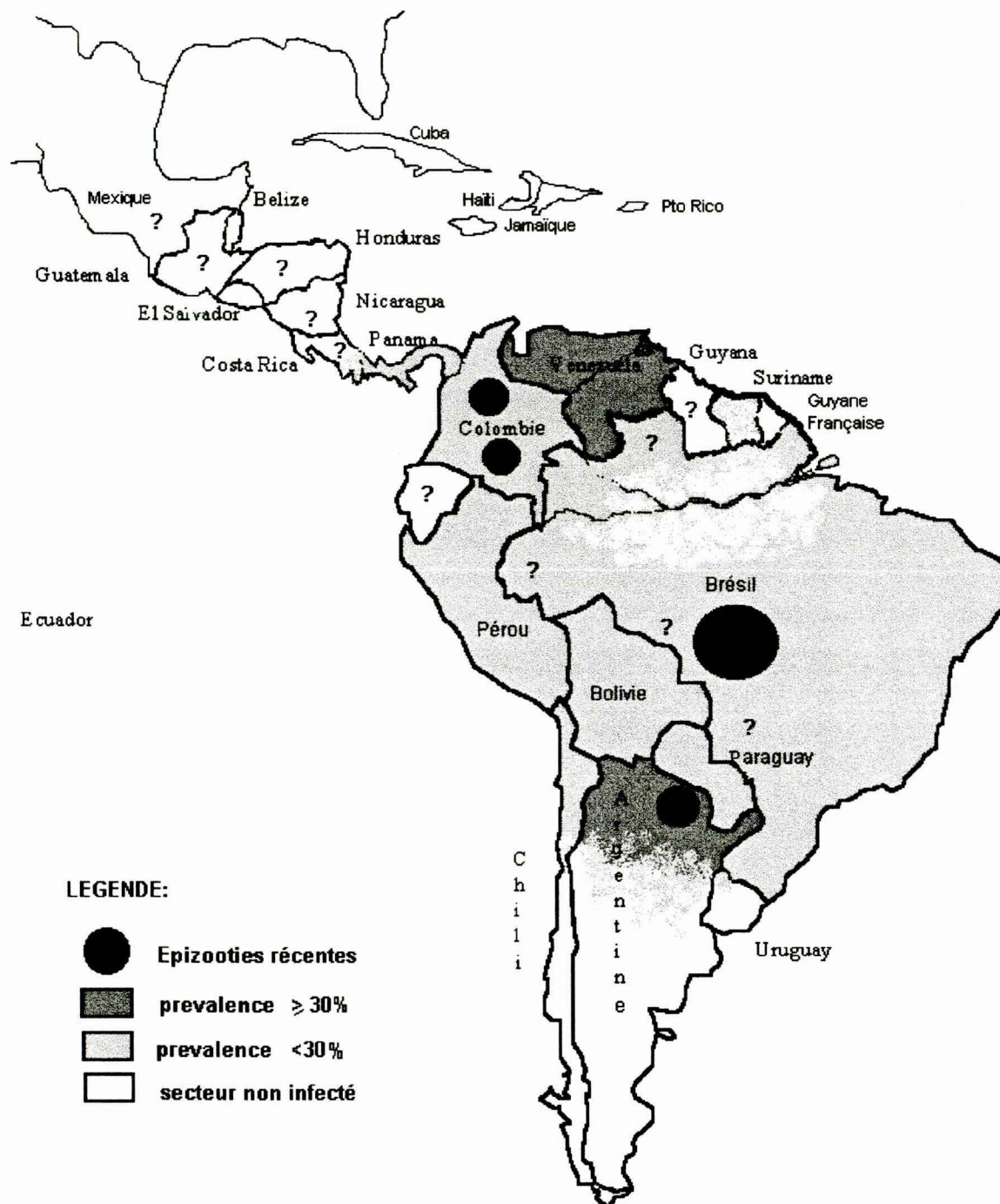


Figure 10 b: Distribution géographique de *T. evansi* en Amérique Latine  
(DESQUESNES et GARRAIN, 1997 a)

*T. cruzi* est le trypanosome pathogène du Nouveau Monde ayant la plus grande extension géographique; anciennement il a été décrit du Mexique à l'Argentine (RODHAIN et PEREZ, 1985), chez l'homme, et chez les animaux sauvages et domestiques. Les prévalences signalées en Amérique du Sud peuvent atteindre 100% chez le chien (Anonyme, 1991 a) et 30,8% chez *Didelphis marsupialis* (DEDET *et al.*, 1985). Chez le bétail les prévalences sont inconnues, faute de technique de diagnostic adaptée. Plus récemment, l'implantation du parasite s'est étendue au Sud des États Unis, puisqu'il a été trouvé dans le Texas, l'Oklahoma, la Louisiane et la Caroline du Sud. Selon les récents travaux de BARR *et al.* (1995), qui ont retrouvé le parasite chez des chiens, la circulation du parasite serait effective en Virginie. La distribution géographique de *T. cruzi* établie à partir des diverses sources indiquées dans le texte est représentée à la **figure 11** où sont indiquées en gris les zones où le parasite est présent; la répartition de la maladie humaine étant un peu plus restreinte. Dans cet aire géographique, les interférences de *T. cruzi* dans le diagnostic des trypanosomoses du bétail doivent être suspectées; en d'autres termes, l'interférence par *T. cruzi* est possible dans l'ensemble des secteurs infectés par *T. vivax* et *T. evansi*.

### 5.3 IMPORTANCE ÉCONOMIQUE

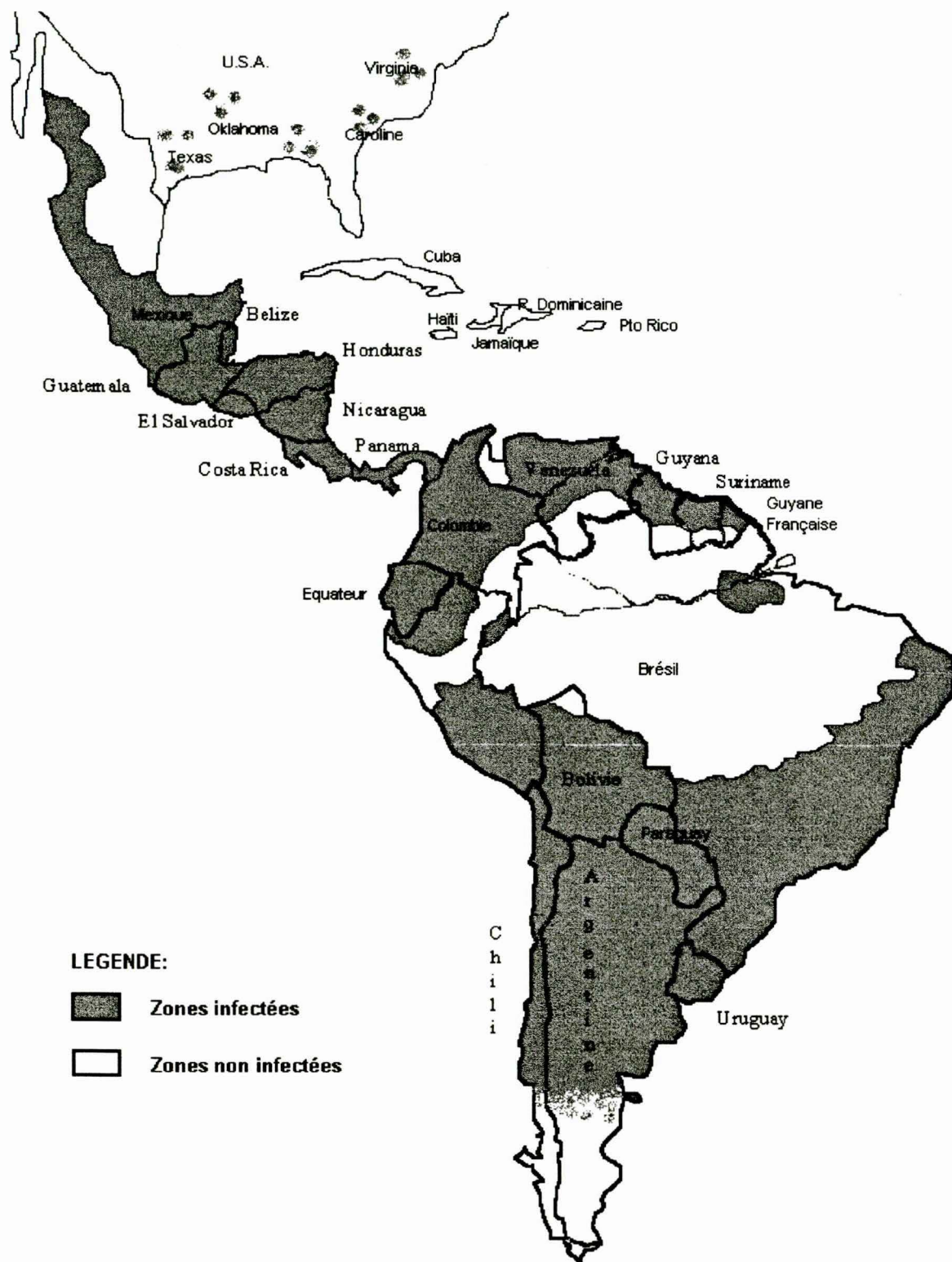
#### *T. vivax*

Au début du siècle, VIRVIESCA (1932) avait très tôt réalisé l'importance économique de la trypanosomose des bovins au Venezuela, avec une mortalité atteignant 40% (RUIZ MARTINEZ, 1971); toutefois, la responsabilité du parasite n'avait toutefois pas été rigoureusement démontrée. Le syndrome « huequera » décrit par Zapata en 1931, et attribué à *T. vivax*, résultait probablement d'un ensemble incluant trypanosomose, anaplasmose et babésioses, helminthoses, parasitisme dû aux tiques et nutrition insuffisante (BETANCOURT et WELLS, 1979). En 1954, FLOCH rapportait que *T. vivax* était la principale cause de mortalité du bétail en Guyane Française. Plus récemment, l'évolution des techniques, et une meilleure connaissance du milieu sanitaire ont permis, dans certains pays, d'établir avec davantage de précision l'impact de la trypanosomose des ruminants.

Au Venezuela *T. vivax* est considéré comme un fléau majeur de l'élevage et il est extrêmement difficile d'établir l'importance économique de la trypanosomose bovine car l'incidence et la prévalence de *T. vivax* sont très variables dans l'espace et dans le temps, et, de plus, les signes cliniques et les traitements des autres hémoparasitoses interfèrent considérablement (CLARKSON *et al.*, 1971 a).

En Colombie, dans un secteur enzootique où seuls les jeunes animaux sont touchés, OTTE *et al.* (1986) ont chiffré les pertes dues à *T. vivax*; dans leur étude, le gain moyen quotidien (GMQ) des animaux passe de 390 à 200g/jour; l'incidence atteint 100%. Des données chiffrées en élevage laitier ont permis d'évaluer à 5650 \$US de l'année 1976 les pertes provoquées par l'introduction de *T. vivax* dans un troupeau de 179 bovins Holstein et croisés (BETANCOURT et WELLS, 1979) (soit 150FF/animal). MATEUS *et al.* (1992) évaluent à 100 000 \$US les pertes occasionnées sur 6 troupeaux (1380 têtes) lors d'un foyer de trypanosomose en Colombie (environ 360FF/animal). OTTE *et al.*, cités par TOURATIER (1993), indiquent que des bovins infectés ne présentant pas de symptômes accusent des chutes de production de 20 à 25%; cette donnée est capitale, elle signifie que si l'on veut mesurer l'impact économique de la trypanosomose du bétail il faut considérer l'ensemble des animaux infectés et pas seulement ceux présentant des symptômes. Dans ces conditions, la connaissance de la prévalence de l'infection permettra d'appréhender les pertes économiques.





**Figure 11: Distribution géographique de *T. cruzi* en Amérique Latine**  
 (DESQUESNES et GARRAIN, 1997 a, d'après OMS, anonyme (1991 a) et autres sources citées dans le texte)

Dans le Nord du Brésil, selon LANHAM *et al.* (1981), l'impact de *T. vivax* sur les buffles serait également important. Dans le Matto Grosso, les craintes vont croissantes, en particulier dans le Pantanal, où une épizootie à *T. vivax* a récemment sévi. Avec 5 millions de bovins le Pantanal serait économiquement très touché si la trypanosomose des ruminants s'étendait ; l'extension des foyers vers le Paraguay et la Bolivie semble avoir débuté (R.A.M.S. SILVA, cité par L. TOURATIER, communication personnelle).

En Guyane Française, les pertes économiques engendrées par *T. vivax* lors de foyers de trypanosomose bovine ont été estimées à une moyenne de 3,3% du poids vif dans les troupeaux infectés, soit près de 220FF/animal, ou encore un montant de 0,88MFF si la moitié du cheptel du département est touché (DESQUESNES et LA ROCQUE, 1992, et annexe 1.2). Si de tels calculs étaient appliqués aux vastes régions d'élevage du Venezuela et du Brésil, l'importance économique des trypanosomoses du bétail en Amérique Latine devrait être considérée comme primordiale, toutefois, l'aspect variable de l'impact, et la faible mortalité observée dans les secteurs enzootiques masquent le plus souvent les effets considérables de cette maladie.

### *T. evansi*

En Afrique, l'élevage des dromadaires est particulièrement touché par les infections à *T. evansi* (WILSON, MORRIS *et al.*, 1963 ; DIALLO 1993). L'infection serait, en outre, un facteur prédisposant aux entérotoxémies et un obstacle à une bonne immunisation vaccinale des dromadaires (TOURATIER, 1995). En Asie, s'il est évident que la trypanosomose à *T. evansi* des chameaux provoque des dommages importants lors de son introduction dans de nouvelles aires, un travail important est encore nécessaire pour estimer les pertes économiques engendrées par le surra, en particulier dans ses formes chroniques (LUCKINS, 1988 ; PATHAK et KHANNA, 1995). Chez les buffles et les chevaux, la mortalité est parfois importante, notamment au Viêt-Nam, (NGUYEN DANG KHAI, 1995, cité par TOURATIER, 1996), où les taux d'avortements chez la bufflesse atteignent 60% (LUONG THO TU *et al.*, 1992).

Chez les bovins l'infection, le plus souvent inapparente, provoque des dépressions immunitaires préjudiciables à l'établissement d'immunité solide lors des campagnes de vaccination (fièvre aphteuse et septicémie hémorragique) (TOURATIER, 1996) ; l'impact économique de *T. evansi* chez les bovins est dans ces conditions très difficile à établir, mais il est loin d'être négligeable.

En Amérique Latine, les informations sont disparates; les plus anciennes reposent sur des impressions qui, faute de moyens techniques, n'ont pu être étayées.

Au Brésil, dans le Pantanal (Matto Grosso), jusqu'en 1930, aucun produit de traitement n'étant disponible, il a fallu réintroduire régulièrement des chevaux de travail à cause de la forte mortalité due à *T. evansi* (, R. A. M. S., SILVA, communication personnelle). Dans cette même région les épizooties récentes se traduisent par des pertes considérables (SILVA, 1995 a et c), et 150 000 chevaux seront exposés si la maladie s'étend. En Argentine, MONZON *et al.* (1995 a) soulignent que 57 000 chevaux sont exposés dans la seule région de Formosa, mais aucune donnée économique n'est disponible.

En Amérique Latine, l'impact des infections à *T. evansi* chez les ruminants est très mal connu, la plupart des études portant sur la trypanosomose à *T. vivax*. Les techniques de séro-diagnostic n'étant pas spécifiques d'espèces, il est impossible à l'heure actuelle d'évaluer l'impact des infections à *T. evansi* chez les ruminants (buffle inclus). A la lumière des observations faites sur d'autres continents, et comme il a été signalé dans l'étude de la pathogénicité, des travaux complémentaires sont nécessaires.



## 6 CONCLUSIONS

L'intérêt porté sur les trypanosomoses en Amérique Latine a fortement crû ces dix dernières années, notamment depuis la création en 1983 du « groupe de travail sur les infections à *Trypanosoma evansi* » (TOURATIER, 1984). Ce groupe tient une réunion annuelle dont le rapport est publié dans la Revue Scientifique et Technique de l'OIE<sup>11</sup> (TOURATIER, 1984, 1986, 1987 a et b, 1989, 1990, 1992 a et b, 1993, et 1996). En 1991, le succès des travaux du groupe a débouché sur l'élargissement de son champ d'investigation avec la création du « Groupe *ad hoc* de l'OIE sur les trypanosomoses animales non transmises par les glossines (TANTG) » (TOURATIER, 1992 b). La dynamique créée par ce groupe a permis un énorme progrès dans le domaine de l'information des TANTG; il a en outre permis de mettre en contact les chercheurs concernés par ces trypanosomoses, à la fois par l'intermédiaire des publications de l'OIE et par celui, sympathique et chaleureux, du Secrétaire permanent du groupe, Louis TOURATIER, mais également grâce au « Premier séminaire international sur les TANTG » organisé à Annecy, en octobre 1992.

En comparaison avec les trypanosomoses africaines et asiatiques, les données disponibles dans la littérature scientifique sur les trypanosomoses animales en Amérique sont relativement pauvres. Dans certains pays d'Amérique Latine, l'existence même des parasites n'est pas connue, ou on ignore si leur présence est permanente ou occasionnelle ; enfin, leur impact économique est rarement évalué. Dans les pays les mieux documentés, l'épidémiologie n'est souvent connue que de manière parcellaire, pourtant, certains pays comme la Colombie et le Venezuela, qui ont depuis longtemps entrepris des études sur les trypanosomoses du bétail ont appréhendé leur importance médicale et économique (WELLS *et al.*, 1982).

*T. vivax*, *T. evansi*, *T. cruzi* et *T. equiperdum* sont ou ont été signalés dans la presque totalité de l'Amérique Latine, et, dans de nombreux cas, à l'aide de techniques sérologiques ne permettant pas de différencier la ou les espèces en cause. La connaissance de leur distribution, de leur prévalence, et de leur importance médicale et économique reste donc très limitée. La réévaluation des outils de diagnostic existants et leur amélioration est une priorité pour permettre d'affiner les connaissances sur les trypanosomoses du bétail dans cette région du globe.

L'existence de *T. evansi* et la prévalence de *T. vivax* dans les Guyanes sont très peu documentées. L'impact économique d'une maladie ne pouvant être estimé qu'avec une bonne connaissance de sa prévalence, les enquêtes épidémiologiques sur les trypanosomoses dans les Guyanes ont été le premier objectif de cette étude.

---

<sup>11</sup> Office International des Epizooties







## CHAPITRE DEUXIÈME :

# ENQUÊTES ÉPIDÉMIOLOGIQUES SUR LES TRYPANOSOMOSES DU BÉTAIL DANS LES GUYANES



## INTRODUCTION

Le Plateau des Guyanes (ou région naturelle des Guyanes) s'étend sur un million et demi de km<sup>2</sup>, partagés entre le Venezuela, le Guyana, le Suriname, la Guyane Française, et le Brésil. Au **tableau II** sont indiquées les superficies et les populations humaines, bovines et équines des Guyanes.

Les pays de la région naturelle des Guyanes qui constituent le Bouclier Guyanais, partagent des similitudes géographiques, pédologiques et climatologiques. La forêt équatoriale croît à l'état naturel sur l'ensemble des Guyanes, excepté sur la zone littorale où une bande côtière étroite formée de savanes et de mangroves s'étale sur une largeur de 10 à 150 km. Le Guyana possède une savane intérieure, la région du Rupununi, située dans le sud du pays, à la frontière brésilienne ; le climat plus sec et la végétation de type savane en font une région d'élevage extensif isolée au sein de la forêt primaire; en outre, cette région commerce avec la région de Boa Vista, au Brésil, qui a encore récemment connu des épisodes de fièvre aphteuse. La **figure 12** représente la carte géographique de l'Amérique du Sud et le détail de la région des Guyanes.

En Guyane Française, l'activité économique et, en particulier l'agriculture, sont très faiblement développées, étant donné le soutien providentiel de la France Métropolitaine; on compte un bovin pour 15 habitants. En revanche, dans les Guyanes indépendantes du Suriname et du Guyana, ainsi qu'au Venezuela et au Brésil l'agriculture est un fondement essentiel de l'économie; on compte environ 1 bovin pour 3 habitants dans ces pays souverains. En régions côtières, l'agriculture est pratiquée notamment sur des polders et repose essentiellement sur les plantations sucrières, la riziculture et l'élevage. La filière bovine, principalement composée de zébus Brahman s'appuie sur des cheptels d'environ 8.000 têtes en Guyane Française, 170.000 au Suriname et 280.000 au Guyana. L'élevage au Guyana tend également à développer d'autres filières, avec 70.000 caprins, 120.000 ovins et 3.500 équins. Au Suriname on compte 7.000 caprins et 2.000 ovins. Les éleveurs des Guyanes sont confrontés à un ensemble de contraintes sanitaires communes, au nombre desquelles figurent, parmi les plus importantes: la cochlomyiose (*Cochliomyia hominivorax*), les hémoparasitoses dues à *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* et éventuellement *T. evansi*, les taons, les tiques, et les vampires, notamment vecteurs de la rage.

En 1991, l'implantation d'une antenne du CIRAD-EMVT en Guyane Française a été l'occasion d'entreprendre une enquête épidémiologique sur les hémoparasitoses bovines dans ce Département français, avec une attention particulière pour la trypanosomose à *T. vivax*. D'autres objectifs ont été définis au terme de cette enquête.

En 1994, la création avec l'IICA<sup>12</sup> d'un réseau d'information sur les hémoparasitoses du bétail dans les Guyanes, dans lequel le CIRAD-EMVT fait office de laboratoire de référence, a permis d'entreprendre des enquêtes épidémiologiques au Guyana et au Suriname, où les trypanosomoses sont très peu documentées.

Les premiers objectifs de notre étude ont été de déterminer l'importance relative de *T. vivax* chez les bovins, par rapport aux autres hémoparasitoses, ainsi que l'existence de *T. evansi* en Guyane Française.



**Remarque:** l'évaluation des techniques de diagnostic doit logiquement précéder leur utilisation dans les enquêtes épidémiologiques; toutefois, de nombreuses publications faisant état, au laboratoire et sur le terrain, des caractéristiques de sensibilité et de spécificité des techniques de diagnostic qui ont été retenues, il a paru légitime d'effectuer la première enquête épidémiologique sans évaluation préalable des tests au laboratoire, tout en restant circonspect sur leur validité puisque certains réactifs étaient utilisés pour la première fois en Amérique du Sud. Les résultats surprenants de l'enquête épidémiologique menée en Guyane Française, ont amené à remettre en question les qualités de sensibilité et de spécificité des Ag-ELISA et à les réévaluer en conditions expérimentales. Afin de préserver la chronologie consécutive, la présentation des résultats des enquêtes épidémiologiques précède celle de l'évaluation des tests.

**Tableau II: Superficies et effectifs humains et animaux des Guyanes**

(d'après GIACOTTINO, 1984, remis à jour selon les informations collectées auprès des Services Vétérinaires des Guyanes)

	partie guyanaise du Venezuela	Guyana	Suriname	Guyane Française	partie guyanaise du Brésil	ensemble de la région naturelle des Guyanes
superficie en km <sup>2</sup>	415 000	214 000	163 265	90 000	620 000	1,5 million de km <sup>2</sup>
population humaine	500 000	865 000	355 000	150 000	350 000	2 millions d'habitants
population bovine	200 000	280 000	170 000	8 000	150 000	808.000 têtes
population équine	?	3 500	1 500	800	?	?

<sup>12</sup> Inter-American Institute for Cooperation in Agriculture

### Amérique du Sud :



### Détail du Plateau des Guyanes :



**Légende:** la zone grisée sur la carte de l'Amérique du Sud (en haut), et la zone cerclée de rouge sur la carte du bas indiquent les limites du Plateau des Guyanes.

**Figure 12: Cartes géographiques de l'Amérique du Sud et détail du Plateau des Guyanes**



# 1 ENQUETE SUR LES HEMOPARASITOSEES DES BOVINS EN GUYANE FRANCAISE

En 1991, le cheptel guyanais est constitué d'environ 8500 bovins ; 70% sont de type zébus et croisés (**figure 13 a**) consacrés à la production de viande, et 30% de type européen, importés de France métropolitaine (**figure 13 b**), dont environ 20% sont destinés à la production laitière.

La trypanosomose à *Trypanosoma vivax* a été soupçonnée d'être, avec les babésioses et l'anaplasmose, l'un des principaux obstacles à l'élevage bovin en Guyane Française (CAMUS *et al.*, 1987; CAMUS et MARTRENCAR, 1990). L'existence de *T. evansi* en Guyane Française a été soupçonnée par CREPIN (1990) sur la base de résultats sérologiques. Une enquête complémentaire était donc nécessaire afin de préciser la situation de ces parasites en Guyane Française.

En pratique, le diagnostic de laboratoire étant rarement porté avant le recours aux traitements, et, les signes cliniques des hémoparasitoses étant voisins, il est apparu nécessaire d'étendre l'enquête à l'ensemble des hémoparasites du bétail présents en Guyane Française, afin, d'une part, de déterminer leur importance relative, et de l'autre, d'appréhender d'éventuelles réactions croisées entre les divers tests et parasites étudiés. La présente enquête porte donc sur les trypanosomoses à *Trypanosoma vivax* et *T. evansi*, l'anaplasmose à *Anaplasma marginale*, les babésioses à *Babesia bigemina* et *B. bovis*, et la theileriose à *Theileria mutans*.

Pour ce qui concerne la trypanosomose à *T. vivax*, les résultats détaillés sont présentés dans la **publication N°1 (annexe 1.3)** : « Epidémiologie de la trypanosomose bovine (*Trypanosoma vivax*) en Guyane Française » (DESQUESNES et GARDINER, 1993). Les éléments essentiels de l'enquête sur l'ensemble des hémoparasites sont présentés ci-après.

## 1.1 MATÉRIEL ET MÉTHODE

La présente enquête résulte d'observations sur le terrain, en Guyane Française, et de diagnostics de laboratoire effectués au CIRAD-EMVT, en Guyane Française, et à l'ILRI<sup>13</sup>. Elle a été réalisée entre octobre 1990 et juin 1992.

### 1.1.1 Prélèvements et sondage

Les prélèvements sont effectués à la veine caudale à l'aide de vacutainers héparinés pour les diagnostics parasitologiques et sur tubes secs pour la sérologie. Tous les animaux sont prélevés sur tube sec pour la sérologie, et, en cas de suspicions cliniques d'hémoparasitoses dans un lot, l'ensemble du lot est prélevé sur tube hépariné pour les examens parasitologiques.

Un échantillonnage de plus de 20% des bovins de plus de 9 mois est réalisé dans 50 élevages sur les 80 répertoriés en Guyane Française.

Afin d'évaluer d'éventuelles variations entre divers secteurs géographiques, le Département est découpé en 5 zones d'élevage constituées autour des communes principales, comme indiqué à la **figure 14**. Pour évaluer d'éventuelles variations saisonnières 200 animaux issus de 4 élevages sont prélevés 5 fois à 4 mois d'intervalle pendant la durée de l'enquête.

---

<sup>13</sup> International Livestock Research Institute (Nairobi, Kenya)





**Figure 13 a : Elevage « traditionnel » de zébus :**

**Légende :** zébus et croisés « Braun Swiss » sont depuis longtemps adaptés aux conditions locales de la Guyane Française (élevage J. MORNAND).

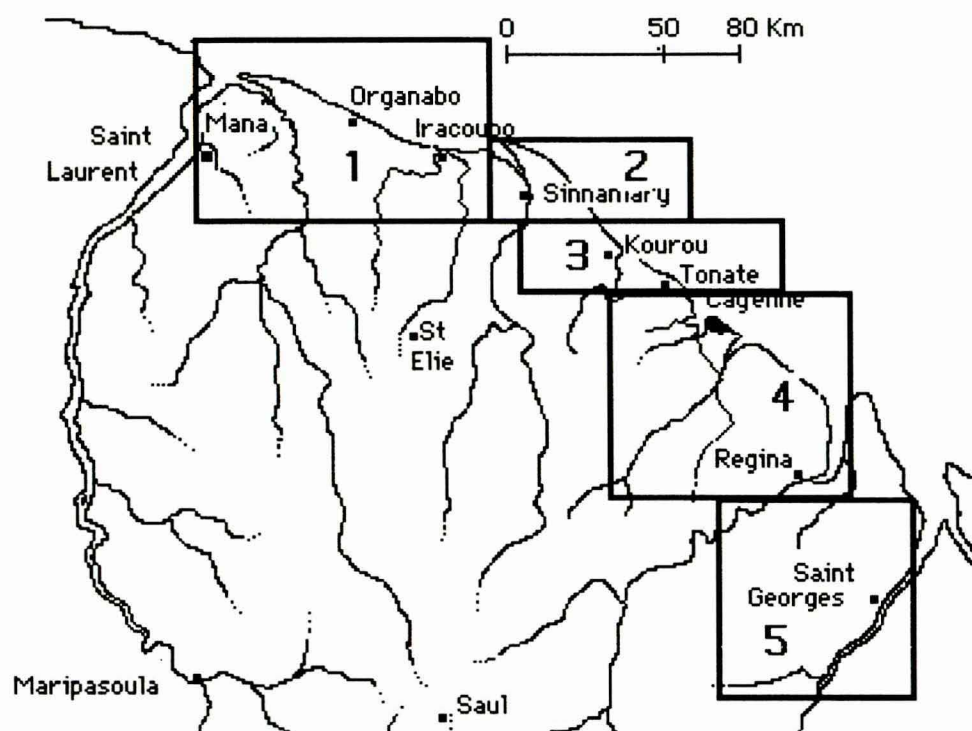


**Figure 13 b : Elevage « moderne » de bovins européens importés de France métropolitaine :**

**Légende :** Les vaches et génisses Aubrac introduites en Guyane Françaises montrent une adaptation rapide aux conditions locales. Un protocole d'adaptation aux hémoparasites (chimioprophylaxie) a été mis en place par le CIRAD-EMVT dans cet élevage (élevage J. MORNAND).

**Figure 13 : Les deux options d'élevage bovin en Guyane, *Bos taurus* et *Bos indicus***





**Légende:** Zone 1: S<sup>t</sup> Laurent (frontière du Suriname); zone 2: Sinnamary; zone 3: Kourou; zone 4: Cayenne; zone 5: S<sup>t</sup> Georges (frontière du Brésil).

**Figure 14: Découpage de la Guyane Française par zones d'élevage**

### 1.1.2 Diagnostics parasitologiques

Ils sont réalisés à l'aide des techniques suivantes :

- 1) Observation microscopique de frottis colorés : elle permet le diagnostic parasitologique de l'ensemble des hémoparasitoses (grossissement X1000 en immersion).
- 2) Observation microscopique de la couche leucocyto-plaquettaire de tubes à hématocrite (en anglais, Haematocrit Centrifuge Technique: HCT), technique décrite par WOO (WOO 1969 et 1970), qui permet un diagnostic plus sensible des trypanosomoses par enrichissement.
- 3) Quand l'HCT est positive, l'observation de la couche leucocyto-plaquettaire (ou « buffy coat ») à l'état frais est réalisé (en anglais: buffy coat method, BCM), selon la technique décrite par MURRAY (MURRAY *et al.*, 1977), et un frottis coloré est préparé avec le matériel récolté au niveau du buffy coat d'un deuxième tube à hématocrite, pour observation et identification des trypanosomes selon la technique décrit par BETANCOURT et JULIO (1979).
- 4) Afin d'isoler des trypanosomes, lorsque l'HCT est positive, l'inoculation intra-péritonéale de 0,2 ml de sang hépariné a été faite à des souris C3H, puis des examens sanguins ont été réalisés tous les trois jours (prélèvement avec un micro-tube capillaire de 20 µl à la queue pour HCT) pendant la première semaine, puis tous les dix jours pendant 3 mois. Cette technique vise à isoler les trypanosomes présents dans les échantillons pour identification sur les critères de morphologie et morphométrie décrits par HOARE (1972).

### 1.1.3 Diagnostics sérologiques

Les protocoles ELISA et les réactifs ont été fournis par l'ILRI, environ la moitié des échantillons ont été traités à l'ILRI (DESQUESNES, 1991 b) et l'autre partie au CIRAD-EMVT-Guyane (DESQUESNES *et al.*, 1993). Les réactifs sont utilisés en Amérique du Sud pour la première fois. Neuf tests ont été pratiqués sur chaque sérum, comme indiqué ci-après:

- 1) La détection des antigènes de *T. vivax* a été réalisée par ELISA-immunocapture (ou Ag-ELISA) selon la méthode décrite par NANTULYA et LINDQVIST (1989), avec l'anticorps monoclonal TV27/9.45.35.
- 2) La détection des anticorps dirigés contre *Trypanosoma* sp. a été faite par la méthode ELISA-indirecte *T. vivax* de FERENC *et al.* (1990), mis à part que l'antigène a été préparé à partir d'une souche africaine de *T. vivax* cultivée sur rats irradiés (GATHUO *et al.*, 1987) (protocole indiqué à l'annexe 2.3).
- 3) La détection des antigènes de *T. evansi* a été réalisée par ELISA-immunocapture, selon la méthode décrite par NANTULYA et LINDQVIST (1989), en utilisant l'anticorps monoclonal spécifique de *T. brucei*, TR 7/47.34.34., qui détecte les antigènes de *T. evansi* (NANTULYA *et al.*, 1987 et 1989).
- 4) La détection des antigènes de *T. congolense* a été réalisée par ELISA-immunocapture, selon la méthode décrite par NANTULYA et LINDQVIST (1989), en utilisant l'anticorps monoclonal spécifique de *T. congolense*. Elle vise à établir la spécificité du test puisque le parasite n'est pas présent en Amérique. Pour les anaplasmes et babésies des réactifs en cours de validation ont été utilisés:
- 5) La détection des antigènes d'*Anaplasma marginale* a été faite par ELISA-immunocapture avec l'anticorps monoclonal Am w 4/36.13.
- 6) La détection des antigènes de *Babesia bigemina* a été faite par ELISA-immunocapture avec l'anticorps monoclonal F4/86.19.



- 7) La détection des anticorps dirigés contre *B. bigemina* a été faite par ELISA-sandwich, avec l'anticorps monoclonal F4/86.19. et un lysat parasitaire.
- 8) La détection des anticorps dirigés contre *B. bovis* a été faite par une méthode ELISA-indirecte voisine de celle de FERENC *et al.* (1990), mis à part que l'antigène a été préparé à partir d'une souche australienne de *B. bovis*.
- 9) La détection des anticorps dirigés contre *Theileria mutans* a été faite par la méthode ELISA-indirecte décrite par KATENDE *et al.* (1990).

Les détails des protocoles figurent dans les publications mentionnées ou dans les rapport d'activité à l'ILRI et en Guyane Française (DESQUESNES 1991 b et DESQUESNES *et al.*, 1993).

#### 1.1.4 Analyses statistiques

Les résultats des différents tests ont été étudiés par analyse factorielle des correspondances (AFC); les corrélations entre recherches d'anticorps et d'antigènes, mais également les corrélations entre espèces différentes ont été éprouvées, afin d'appréhender d'éventuels défauts de spécificité des tests, ou l'existence de liaisons entre les infections par les diverses espèces parasitaires étudiées.

Des comparaisons deux à deux par la technique du CHI2 sont effectuées : selon la saison du prélèvement (3 périodes de l'année), l'espèce (zébu/bovin européen), le type de production (lait/viande), et l'âge des animaux (trois classes d'âge : <12 mois, 12 à 18 mois, et >18 mois).

## 1.2 RÉSULTATS-DISCUSSION

Au total 2953 bovins ont été prélevés ; l'échantillonnage représente 35% du cheptel Guyanais.

### 1.2.1 Diagnostics parasitologiques

#### 1.2.1.1 Trypanosomes

Des suspicions cliniques ont amené à prélever 509 animaux sur tubes héparinés pour examens parasitologiques. Des trypanosomes ont été observés dans 39 échantillons sur 509 (soit 7,6 %). L'examen des tubes à hématocrite a révélé la présence de *Megatrypanum* sp., supposés être *T. theileri*, et, parfois, de trypanosomes non identifiés, très peu abondants (< 7 trypanosomes par tube à hématocrite). Aucune parasitémie élevée n'a été rencontrée, et *T. vivax* n'a jamais pu être diagnostiqué parasitologiquement pendant toute la durée de l'enquête.

Dans 8 cas *T. theileri* fut identifié par étalement et coloration de buffy coat. Dans les 31 autres cas, les parasites étaient en trop faible nombre pour être retrouvés par BCM, ou sur les frottis sanguins et de buffy coat; ils n'ont donc pu être identifiés avec certitude. Dans la majorité des cas il s'agissait vraisemblablement de *Megatrypanum* sp. (grande taille et forme effilée), mais la présence d'une espèce pathogène ne peut être exclue. 39 souris ont été inoculées; dans un seul cas, un trypanosome de petite taille a été retrouvé 3 jours après l'inoculation, mais en trop faible quantité pour permettre l'identification; par la suite, malgré un essai de passage en série sur une autre souris, et malgré l'observation prolongée pendant 3 mois de la souris ayant présenté des parasites, les trypanosomes n'ont pas été retrouvés. L'hypothèse d'un *T. vivax* est la plus vraisemblable.

Aucune relation évidente n'a été trouvée entre les résultats parasitologiques et sérologiques, en particulier aucune liaison n'a été trouvée entre le résultat au test de WOO et les recherches d'anticorps ou

d'antigènes dirigés contre *Trypanosoma* spp., ce qui corrobore l'hypothèse que, dans la plupart des cas, les trypanosomes observés étaient des *Megatrypanum* sp.

Avec les techniques parasitologiques utilisées, la prévalence des infections par *T. theileri* serait donc de 7,6%; ce résultat est voisin de ceux obtenus au Suriname, 10,9% (VAN VLANDEREN, 1996) et en Argentine, 6,7% (MONZON *et al.*, 1993).

#### 1.2.1.2 Anaplasmes

Les recherches d'anaplasmes ont montré que 122 frottis étaient positifs sur les 442 observés (28%). Ce score relativement élevé est dû au fait que les animaux ont été prélevés dans des cas de suspicion clinique d'hémoparasitose. En comparaison aux résultats sérologiques, la prévalence plus faible reflète la faible sensibilité de la technique parasitologique. La concordance avec les résultats des ELISA-immunocaptures pour la détection des antigènes d'*Anaplasma marginale* est très bonne puisque 103 des 112 échantillons positifs au frottis le sont également en ELISA-immunocapture.

La plus forte sensibilité de l'ELISA-immunocapture a permis de diagnostiquer 99 échantillons positifs à la détection des antigènes sur les 310 pour lesquels les frottis étaient négatifs.

La confirmation par frottis d'une suspicion clinique d'anaplasmose s'avère très aisée sur les animaux importés récemment (fortes parasitémies), mais difficile sur le cheptel local dont les parasitémies sont toujours basses ; en outre, les frottis de porteurs sains sont le plus souvent négatifs.

Aucune liaison statistique forte n'a été décelée entre les échantillons « anaplasmes » positifs en parasitologie, et les sérologies « trypanosomes » ou « babésies » ; l'hypothèse d'un croisement sérologique important entre les tests n'est donc pas retenue.

#### 1.2.1.3 Babésies

Les recherches de babésiose n'ont montré que 3 frottis positifs (*Babesia bigemina*) sur les 442 observés. Ce chiffre très bas reflète la faible parasitémie, en particulier chez des animaux prémunis. Les trois animaux positifs au frottis l'étaient également avec la technique de détection des antigènes de *B. bigemina* par ELISA. Le test ELISA a, de plus, permis de détecter 70 animaux positifs à la détection des antigènes, parmi les 439 prélèvements dont les frottis étaient négatifs. La lecture de frottis est insuffisamment sensible pour permettre un diagnostic satisfaisant des babésioses ; le diagnostic sérologique est donc requis.

#### 1.2.1.4 *Theileria mutans*

Le parasite n'a jamais été observé.

### 1.2.2 Diagnostics sérologiques

1300 échantillons ont été traités à l'ILRI et 1653 au CIRAD-EMVT-Guyane ; les résultats moyens de ces 2 lots n'ont pas été sensiblement différents. Les résultats généraux sont présentés au **tableau III**.

#### 1.2.2.1 *Trypanosoma vivax*

L'analyse détaillée des données concernant *T. vivax* est présentée et commentée dans la publication N°1. La **figure 15** indique les séroprévalences des anticorps *Trypanosoma* sp. et des antigènes de *T. vivax* observées pour chaque zone d'élevage.



**Tableau III : Résultats des diagnostics sérologiques des hémoparasitoses chez 2953 bovins de Guyane Française**

Antigènes (Ag) ou Anticorps (AC) recherchés :	pourcentage	d ' échantillons	positifs
Ag <i>T. congolense</i>	18	)	)
Ag <i>T. brucei</i>		) Ag de	)
(détection de <i>T. evansi</i> )	20	) <i>Trypanosoma</i> spp.	) Ag et/ou AC
Ag <i>T. vivax</i>	12	) 26 )	) <i>Trypanosoma</i> spp.
		) )	) <b>37</b>
AC <i>T. vivax</i>		) Ag et/ou AC.	)
(détection des infections par <i>Trypanosoma</i> spp. )	<b>22</b>	) <i>T. vivax</i>	)
		) <b>29</b>	)
AC <i>Babesia bovis</i>	62		) <i>Babesia.</i> spp.
Ag <i>Babesia bigemina</i>	22	) Ag et/ou AC	) <b>84</b>
AC <i>Babesia bigemina</i>	67	) <i>B. bigemina</i> 73	)
Ag <i>Anaplasma marginale</i>	<b>61</b>		
AC <i>Theileria mutans</i>	<b>0</b>		

**Légende :** les chiffres du tableau indiquent les pourcentages de résultats positifs aux diagnostics sérologiques des hémoparasitoses pour 2953 bovins de Guyane Française.

**Anticorps :** La séroprévalence moyenne des anticorps est de 22%. Les séroprévalences moyennes s'étendent, par secteur géographique de 18 à 38%, et par élevage de 0% à 66%. Aucune variation saisonnière, ou par classe d'âge n'a été observée. La séroprévalence chez les zébus (31%) est supérieure à celles des bovins européens à viande (9%), ce qui est probablement dû aux chimioprophylaxies régulièrement appliquées chez les animaux importés, et à l'isolement de ces élevages. La séroprévalence des bovins européens laitiers est la plus élevée (50%), ce qu'il faut mettre en relation avec un recours parcimonieux aux traitements du fait des délais d'attente sur le lait.

**Antigènes/anticorps :** 58% des échantillons positifs en recherche d'antigènes de *T. vivax* sont négatifs en recherche d'anticorps de *Trypanosoma* sp. Théoriquement, une semblable observation correspondrait à des infections récentes, pour lesquelles les antigènes circulants seraient apparus plus précocement que les anticorps. Aucune infection active n'ayant été détectée pendant l'enquête, ces résultats sont difficilement explicables. De plus, le délai de séroconversion du test de détection des antigènes est au moins aussi long (10 à 20 jours selon NANTULYA et LINDQVIST, 1989) que celui de recherche d'anticorps (10 jours selon FERENC *et al.*, 1990); de tels résultats sont donc très inattendus.

42% des échantillons positifs en recherche d'antigènes de *T. vivax* sont également positifs en recherche d'anticorps *Trypanosoma* sp., ce qui peut être interprété comme des animaux activement infectés.

75% des échantillons positifs en recherche d'anticorps *Trypanosoma* sp. sont négatifs en recherche d'antigènes; ceci correspondrait à des animaux ayant été infectés par le passé, mais n'étant pas restés porteurs du parasite. Le délai de séroconversion négative du test de détection des anticorps étant relativement court (1 mois selon FERENC *et al.*, 1990), cette interprétation semble hasardeuse d'autant qu'aucun traitement curatif de la trypanosomose n'était disponible en Guyane Française durant cette période.

**Antigènes :** La moitié des échantillons positifs en Ag-ELISA *T. vivax* sont également positifs en Ag-ELISA *T. brucei*., ce qui correspondrait à des infections actives mixtes. Une explication différente de cette observation ainsi que l'existence de 18% de résultats positifs obtenus avec le test de détection des antigènes de *T. congolense* est avancée au chapitre trois.

#### 1.2.2.2 *Trypanosoma evansi*

D'après NANTULYA *et al.* (1987 et 1989), le test de détection des antigènes de *T. brucei* permet de détecter les antigènes de *T. evansi* sans réaction croisée avec les autres espèces de trypanosomes. L'utilisation de ce test en Guyane devait permettre le diagnostic spécifique des infections par *T. evansi*. Le test a fourni 20% de résultats positifs, soit 20% de bovins supposés porteurs de *T. evansi*. Des essais d'isolement du parasite ont donc été entrepris (§2), ainsi que la réévaluation du test (chapitre 3).

#### 1.2.2.3 Anaplasmes et babésies

Les pourcentages de sérums positifs (détection des antigènes: Ag, ou des anticorps: AC), par zone, et pour l'ensemble du département sont indiqués au **tableau IV**.

Dans l'ensemble ces résultats indiquent l'état enzootique des babésioses et de l'anaplasmose bovine en Guyane Française. La région de St Georges fait exception en ce qui concerne *B. bigemina*



(séroprévalence 0%) ; la région de Cayenne présente une séroprévalence d'anaplasmose inférieure aux autres régions en raison de l'abondance de bétail européen importé et régulièrement traité. Aucune variation saisonnière ou par classe d'âge n'a été enregistrée, seules des variations par race et type de production ont été observées, avec les plus fortes séroprévalences des hémoparasitoses chez les bovins européens laitiers, traités avec parcimonie du fait des délais d'attente sur le lait, puis chez les zébus, rarement traités du fait de leur résistance naturelle et de leur adaptation aux conditions locales, et enfin des bovins européens à viande, régulièrement traités ou placés sous régimes chimioprophylactiques.

L'analyse détaillée des résultats pour les anaplasmes et babésies ne figure pas dans le présent document. Nous renvoyons le lecteur à la bibliographie (DESQUESNES *et al.*, 1993, et GOUREAU 1994). Les tests « anaplasmose » et « babésioses » utilisés pour cette enquête n'ont jamais été validés en l'état par l'ILRI (ex-ILRAD).

Outre les liaisons fortes entre les Ag-ELISA *T. vivax*, Ag-ELISA *T. brucei* et Ag-ELISA *T. congolense*, et la liaison de ces tests avec l'ELISA-indirecte *Trypanosoma* sp. déjà commentés, aucune liaison forte entre tests n'a été détectée par l'AFC; en particulier la parfaite indépendance des tests *B. bovis*, *B. bigemina*, *Trypanosoma* sp. (ELISA-indirecte) et *A. marginale* a été confirmée.

#### **1.2.2.4 Comparaison aux enquêtes antérieures**

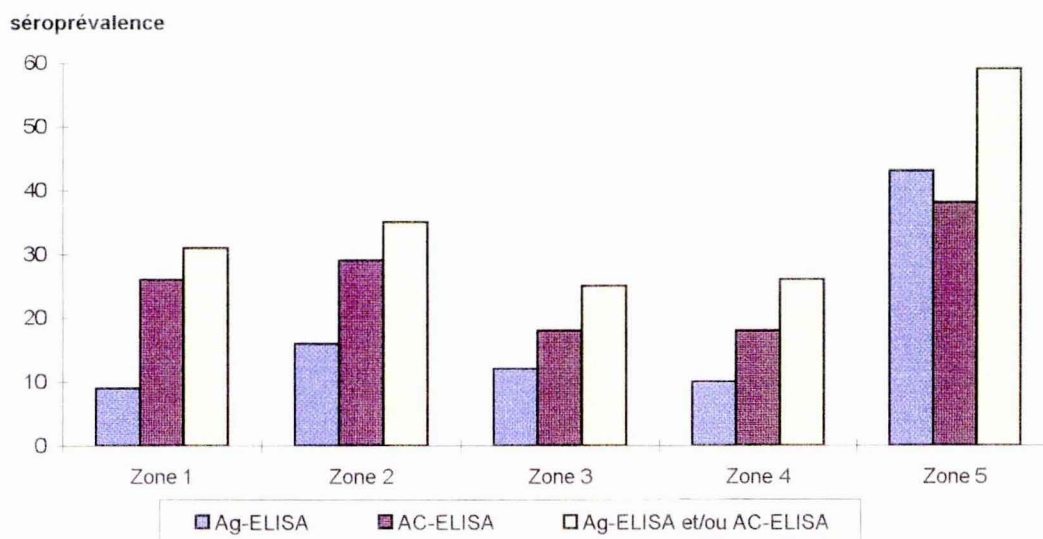
##### **Trypanosomes**

En 1983 et 1985, de nombreux cas cliniques de trypanosomose étaient signalés, souvent confirmés par diagnostic de laboratoire (HCT); l'enquête réalisée par IFI au seuil de 1/160 a donné une séroprévalence de 35,4% sur 328 zébus testés, et 5,5% chez les animaux laitiers (CAMUS et RAYMOND, 1995).

Entre novembre 1990 et juin 1992 aucune « trypanosomose-maladie » n'a été signalée, la séroprévalence des anticorps est descendue à 22% sur 2953 animaux testés. L'évolution de la séroprévalence correspond bien à celle de la prévalence clinique. En revanche, la proportion d'animaux positifs dans les élevages laitiers est de 50%, très supérieure aux résultats enregistrés en 1985. L'enquête auprès des éleveurs ne privilégie pas l'hypothèse d'une infection de ces troupeaux après l'enquête de 1985; la plus grande sensibilité du test ELISA utilisé lors de la seconde enquête est plus probablement à l'origine de cette différence importante.

La question de la circulation occulte de *T. vivax* dans la population bovine reste non élucidée. La réponse n'a pu être apportée avec les ELISA-immunocaptures élaborés à partir des parasites africains (NANTULYA et LINDQVIST, 1989), car ces tests fournissent une quantité importante de résultats faussement positifs et faussement négatifs, comme il a été démontré par la suite (chapitre 3). L'utilisation de techniques plus spécifiques et plus sensibles est nécessaire afin de déterminer si des bovins restent porteurs du germe pendant les périodes inter-épizootiques, et si la maladie est une menace permanente ou occasionnelle pour l'élevage guyanais.

Dans l'ensemble, les observations faites lors de notre enquête épidémiologique sont très comparables à celles faites au Venezuela, région voisine de la Guyane. Dans leur étude, DUNO *et al.* (1992) signalent que seulement 1% des bovins sont trouvés porteurs du parasite (HCT) et 58% porteurs d'anticorps (IFI); aucune relation n'a été trouvée entre prévalence et âge ou sexe, mais la prévalence dans les troupeaux laitiers était significativement supérieure (66%) à celle des troupeaux à viande (50%).



**Légende:** Ag-ELISA: détection des antigènes dirigés contre *T. vivax* par antigène-ELISA (ou ELISA-immunocapture) ;  
 AC-ELISA : détection des anticorps dirigés contre *Trypanosoma* sp. par ELISA-indirecte *T. vivax* ;  
 Ag-ELISA et/ou AC-ELISA : échantillons positifs à l'une des deux techniques au moins.

**Figure 15 : *T. vivax* : séroprévalence des antigènes et/ou des anticorps par zone d'élevage chez les bovins**

**Tableau IV: Séroprévalences des autres hémoparasitoses bovines par zone d'élevage**

test de détection des	zone 1 ST Laurent	zone 2 Sinnamary	zone 3 Kourou	zone 4 Cayenne	zone 5 St Georges	Prévalence moyenne
Ag <i>A. marginale</i>	54%	67%	69%	48%	56%	61%
Ag <i>B. bigemina</i>	18%	14%	30%	20%	0%	22%
AC <i>B. bigemina</i>	58%	89%	65%	58%	74%	67%
Ag et/ou AC <i>B. bigemina</i>	63%	90%	73%	62%	74%	71%
AC <i>B. bovis</i>	60%	75%	56%	66%	33%	63%



**Anaplasmes :** Dans le cas de l'anaplasmose, la précédente enquête avait fourni une séroprévalence des anticorps de 45% (Card test). La détection des antigènes par ELISA a fourni 61% de positifs. Les cas cliniques sont très rares dans le cheptel local. L'anaplasmose est en état d'équilibre dû à l'immunité de prémunition. Il est probable qu'un système sensible de détection des anticorps fournirait une séroprévalence proche de 100%. Les cas cliniques les plus spectaculaires sont observés sur le bétail importé de France métropolitaine.

**Babésies :** Les recherches d'anticorps réalisées en 1985 en IFI, ont fourni, chez les animaux laitiers, des prévalences de l'ordre de 45%, et des séroprévalences très basses chez les zébus: 8% pour *B. bigemina* et 6% pour *B. bovis*. Très peu de cas cliniques étant observés, la situation a tantôt été interprétée comme endémique critique (CAMUS *et al.*, 1987), tantôt comme un équilibre stable dû à une très faible prévalence de l'infection (CAMUS, communication personnelle).

Les diagnostics par ELISA réalisés en 1991-92 indiquent une image diamétralement opposée: 73% des animaux possèdent des anticorps dirigés contre *B. bigemina* et 62% contre *B. bovis*. Les séroprévalences chez les zébus (*B. bigemina* 77% et *B. bovis* 62%) sont inférieures mais peu différentes de celles des animaux laitiers (respectivement 80% et 89%). L'interprétation serait donc celle d'une enzootie stable due à une immunité de prémunition, la presque totalité des animaux étant porteurs des parasites. Les observations de terrain sont en parfaite adéquation avec ces résultats (FAVRE, communication personnelle). En outre, les infestations par les tiques sont faibles mais permanentes chez les zébus (absence presque totale de traitements acaricides), et fortes et mal contrôlées chez les bovins laitiers, ce qui corrobore l'hypothèse d'enzootie révélée par des séroprévalences élevées.

Dans l'ensemble, il apparaît que les techniques ELISA utilisées dans cette enquête sont plus sensibles que les techniques IFI et Card précédemment utilisées.

### 1.3 CONCLUSION

Cette enquête a permis d'établir la situation épidémiologique globale des hémoparasitoses bovines en Guyane Française, en précisant notamment l'état enzootique de l'anaplasmose et des babésioses, et en indiquant des traces sérologiques d'infection par *T. vivax* à hauteur de 22% (ELISA-indirecte). La situation épidémiologique de la trypanosomose est inégale selon les élevages et réclame des études complémentaires.

Si les hémoparasitoses ont des expressions cliniques voisines et confuses, de telles interférences n'ont pas été observées dans le diagnostic de laboratoire qui apparaît fiable, au moins dans la distinction des genres ; la technique **ELISA-indirecte *T. vivax* a donc été retenue pour les travaux ultérieurs.**

Pour la trypanosomose bovine à *T. vivax*, à ce stade des connaissances, l'interprétation des résultats de l'enquête est difficile car, en l'absence de parasites observés, on ignore si le germe circule, quels sont ses réservoirs, s'il est présent en permanence chez le bétail ou introduit occasionnellement, etc. Certains résultats de l'enquête suggèrent des défauts de sensibilité et/ou de spécificité des kits de détection des antigènes ; **leur réévaluation a donc été entreprise** notamment à l'aide de souches locales de parasites (chapitre 3).

L'enquête n'ayant montré que l'existence de traces sérologiques d'infections à *T. vivax*, une **épidémio-surveillance** a été mise en place chez les bovins (§3) avec l'aide du SVD<sup>14</sup>. Les observations de terrain antérieures à ces travaux ayant fait suspecter la participation des moutons dans l'épidémiologie de la trypanosomose bovine (J. FAVRE, communication personnelle), une **enquête sérologique rétrospective** a été réalisée dans cette espèce, et une **épidémio-surveillance** a été mise en place (§4).

Enfin, l'existence de *T. evansi* chez le bétail étant suggéré par les résultats sérologiques, des **essais d'isolement** ont été entrepris pour établir l'existence du parasite dans le Département (§2).

## 2 ETUDE DE *T. EVANSI* EN GUYANE FRANCAISE

Les premiers indices en faveur de la présence de *T. evansi* dans le Département sont des diagnostics par IFI pour *T. evansi* réalisés sur 418 échantillons de sang de bovins, qui ont fourni 10% de positifs (CREPIN, 1990), et, par la méthode du CATT test<sup>ND</sup> sur des chiens et des bovins (TOURATIER, 1992 a). Toutefois, le manque de spécificité de ces tests ne permet pas de conclure, d'autant que la trypanosomose des chevaux n'a jamais été signalée ou soupçonnée en Guyane Française. Par la suite la détection d'antigènes parasitaires chez 20% des 2953 bovins testés à l'aide d'un monoclonal spécifique du groupe *T. brucei*, qui reconnaît les antigènes de *T. evansi* (NANTULYA *et al.*, 1989), paraissait être en faveur de l'existence du parasite en Guyane Française (§1). Toutefois, seul l'isolement du parasite à partir du sang de bovin aurait permis de confirmer cette hypothèse. Des essais d'isolement ont alors été entrepris à partir des résultats sérologiques obtenus chez des bovins, des pécaries et des chevaux, et une épidémio-surveillance a été mise en place chez les chiens.

### 2.1 MATERIEL ET METHODE

**Bovins, et pécaries :** Des essais d'isolement de *T. evansi* ont été réalisés par inoculation intra-péritonéale (IP) de 0,2ml de sang hépariné à des souris C3H à partir de:

- 11 échantillons de sang de pécaries (élevage INRA, Dégraad Saramaca) positifs au test de détection des antigènes de *T. brucei* (présupposés infectés par *T. evansi*);

- 20 échantillons de bovins fortement positifs au test de détection des antigènes de *T. brucei* mais négatifs aux tests de détection des antigènes de *T. vivax* et de *T. congolense* (collectés au cours de l'enquête épidémiologique réalisée en 1990-92) ;

- 39 échantillons de bovins positifs au test de WOO, porteurs de trypanosomes non identifiés ou identifiés à *T. theileri* (également collectés au cours de l'enquête épidémiologique 1990-92).

Les animaux inoculés sont élevés en animalerie isolée des insectes. Du sang est prélevé à la queue, à l'aide d'un micro-tube à hématocrite hépariné de 20µl pour la réalisation du test de WOO, tous les 3 jours pendant 9 jours, puis une fois par semaine pendant 3 mois après l'inoculation. Lorsque des trypanosomes sont observés la ré-inoculation à une autre souris est effectuée afin de réaliser des passages en série.

**Chevaux :** Une enquête sérologique par ELISA-indirecte *T. evansi* (méthode décrite au chapitre 3) a été réalisée sur 300 sérums de chevaux. L'inoculation de 20 souris C3H à partir du sang des 10 chevaux ayant

---

<sup>14</sup> Service Vétérinaire Départemental (Guyane Française)



fourni les scores les plus élevés en ELISA-indirecte *T. evansi* a été réalisée, et les animaux suivis comme indiqué précédemment. Des PCR sur ADN extrait d'échantillons sanguins (technique de PENCHENIER *et al.*, 1996) provenant de ces 10 animaux ont été réalisées avec les amorces spécifiques de *T. vivax*, *T. brucei* (MASIGA *et al.*, 1992) et *T. cruzi* (MOSER *et al.*, 1989 b) selon les méthodes décrite par les auteurs.

**Chiens :** En collaboration avec un praticien vétérinaire de Cayenne (D. FRENAY), des frottis sanguins ont été préparés en cas de suspicion clinique de trypanosomose chez le chien (*T. evansi* et *T. cruzi*).

## 2.2 RESULTATS-DISCUSSION

**Bovins, et pécaries :** Aucun parasite n'a pu être isolé. L'évaluation du test de détection des antigènes de *T. evansi*, en particulier chez des moutons expérimentalement infectés par *T. vivax* montrera un fort croisement avec les antigènes de *T. vivax*, puisque les résultats indiqueront jusqu'à 26% de faux positifs. D'autre part, des travaux complémentaires ont montré que l'ELISA-immunocapture *T. brucei* admet des résultats faussement positifs avec des antigènes de nature indéterminée (sérum de bovins de métropole). Ces données, associées à l'impossibilité d'isoler *T. evansi* malgré les essais pratiqués ont conduit à interpréter les résultats positifs en ELISA-immunocapture *T. brucei* des bovins locaux comme une détection non spécifique des antigènes de *T. vivax*. La présence de *T. evansi* chez les bovins n'est donc pas envisagée.

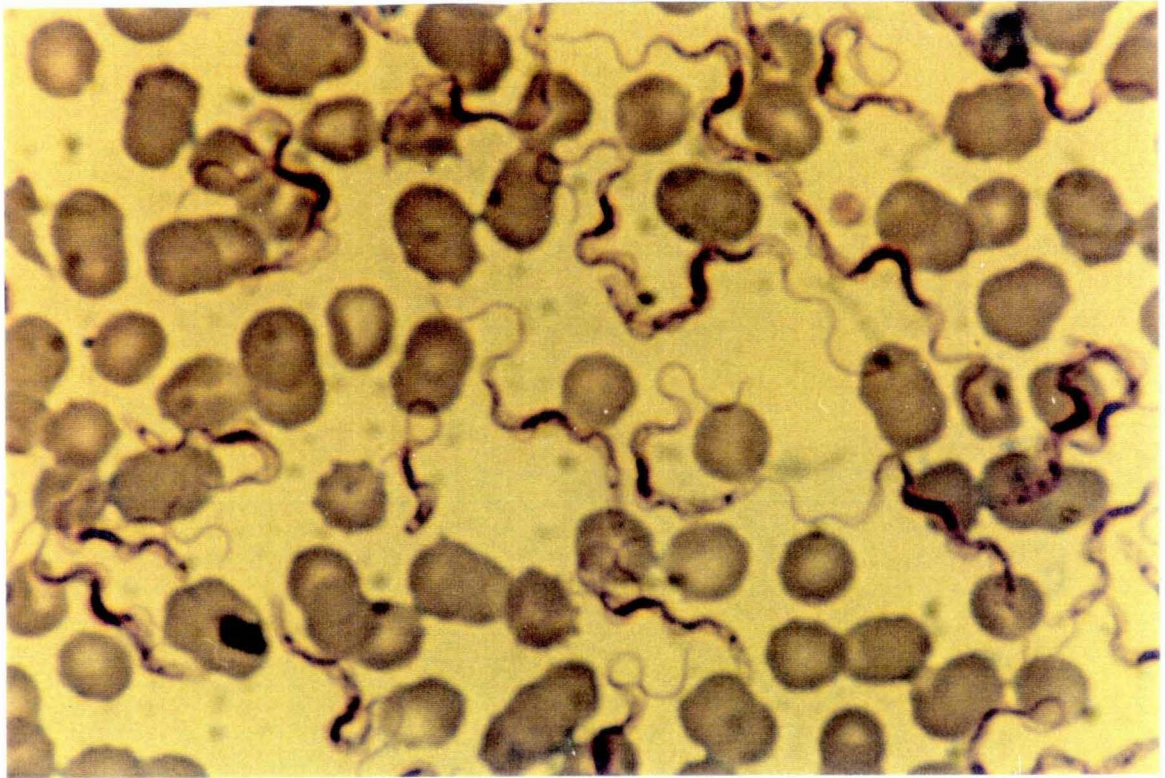
**Chevaux :** 3% des échantillons ont fourni des réponses fortement positives. Aucun signe clinique n'a pu être mis en relation avec ces résultats sérologiques. Les 10 chevaux présentant les scores les plus élevés ont été prélevés à nouveau pour inoculation à des souris. Ces inoculations n'ont pas permis d'isoler de trypanosome. Les résultats en PCR sont tous négatifs.

Les hypothèses les plus probables permettant d'expliquer la présence d'anticorps dirigés contre *Trypanosoma* sp. chez les chevaux en Guyane Française sont les suivantes:

- les anticorps correspondent à des infections par *T. cruzi*; le parasite étant essentiellement tissulaire, il est concevable que les inoculations aux souris et les PCR soient restées négatives; ces animaux peuvent être ou avoir été porteurs de *T. cruzi*;
- les anticorps correspondent à la réaction immunitaire des chevaux à des inoculations de *T. vivax* par les taons (et autres vecteurs mécaniques); le parasite n'aurait pas cultivé sur cheval, expliquant les résultats négatifs des PCR et des inoculations (les souches locales de *T. vivax* ne se cultivent pas sur souris);
- un autre trypanosome ou micro-organisme pourrait enfin être à l'origine d'un croisement sérologique.

Tous les chevaux étant issus de Guyane ou de zone indemne de *T. evansi* (France métropolitaine) un portage inapparent du parasite n'est pas envisagé, les sérologies positives sont donc plus probablement des faux positifs dus à la faible spécificité d'espèce du test ELISA-indirecte

**Chiens :** Sur une vingtaine d'observations réalisées en cas de suspicions cliniques de trypanosomose du chien, un seul échantillon a présenté des trypanosomes, en abondance, sur un frottis réalisé *post mortem*. L'animal, un chien de chasse, présentait des symptômes cliniques aigus avec signes cardiaques menant à la mort en trois jours. L'examen du frottis a permis d'identifier le parasite au sous-genre *Trypanozoon* (figure 16), et, le plus probablement à *T. evansi* (FRENAY et DESQUESNES, non publié).



**Commentaire :** le niveau de parasitémie ( $>10^8$ ), la morphologie (extrémité postérieure effilée, kinétoplaste de petite taille, situé à grande distance de l'extrémité) et la morphométrie du parasite (kinétoplaste de taille  $< 0,7\mu\text{m}$ , longueur totale  $> 26\mu\text{m}$ , membrane ondulante bien développée) se rapportent à celle de *T. evansi*, mais les signes cliniques observés étaient à dominante cardiaque, qui pouvait cliniquement être confondue avec une infection aiguë à *T. cruzi*. Seule l'observation du parasite permet le diagnostic différentiel. Les mensurations du parasite sont présentées au tableau XIX.

**Figure 16 : *Trypanosoma evansi*, chez un chien, Guyane Française**  
(original, FRENAY, LA ROCQUE et DESQUESNES) (grossissement X1000)



Malheureusement le parasite n'a pu être isolé, et de tels cas n'ont pas été signalés depuis, malgré la vigilance du praticien de Cayenne. Le chien a donc agi comme animal sentinelle, et a permis de montrer indirectement l'existence de *T. evansi* dans la faune sauvage de Guyane Française. Les réservoirs sauvages devront être identifiés.

En outre, il est essentiel d'effectuer l'identification d'espèce car des sérologies positives à *T. cruzi* ont également été enregistrées chez des chiens à Cacao (RACCURT, 1996), ainsi qu'un cas clinique de pancardite chagasique (DELAVENTA 1995, d'après RACCURT, 1996).

### 2.3 CONCLUSION

De toute évidence, des outils de diagnostic sensibles et spécifiques font défaut, mais, à ce jour aucun élément objectif n'est en faveur de la présence de *T. evansi* chez le bétail. Quoiqu'il en soit, la situation n'est pas figée, la présence du parasite dans la faune sauvage, et son passage occasionnel au chien (chien de chasse), en font une menace réelle et permanente pour le bétail de Guyane Française.

Les résultats de cette étude confirment que la réévaluation des ELISA-immunocapture *Trypanosoma* spp. (ou Ag-ELISA) s'avère nécessaire, une interprétation prématurée de résultats enregistrés durant l'enquête épidémiologique chez les bovins pouvant amener à des conclusions erronées (cf. résultats positifs avec l'Ag-ELISA *T. congolense*), notamment en ce qui concerne *T. evansi* dont on a observé une séroprévalence élevée des antigènes chez les bovins (20%), apparemment en l'absence du germe.

## 3 EPIDÉMIO-SURVEILLANCE BOVINE EN GUYANE FRANÇAISE

A la suite de l'enquête sur les bovins, réalisée en 1990-92, et devant les questions soulevées par les résultats, une épidémiologie-surveillance a été mise en place, avec le Service Vétérinaire Départemental (SVD).

### 3.1 MATERIEL ET METHODES

Des prélèvements sur tube hépariné et tube sec sont effectués afin de réaliser des examens parasitologiques par technique HCT et frottis coloré, et des examens sérologiques par ELISA-indirecte *T. vivax*. Le matériel et les méthodes sont les mêmes que pour les enquêtes précédemment décrites mis à part que les prélèvements ne sont réalisés qu'en cas de suspicions cliniques d'hémo-parasitose(s).

Lorsqu'un foyer de trypanosomose est identifié, les animaux sont à nouveau prélevés afin de suivre l'évolution de l'infection. Dans un cas les animaux sont pesés à 2 mois d'intervalle pour évaluer les pertes de poids dues à un foyer de trypanosomose, et la température rectale est relevée. L'enregistrement des données entomologiques (présence et abondance des taons et stomoxes) est effectué par simple observation dans les élevages le matin entre 6H30 et 8H30 lorsque des foyers de trypanosomose sont déclarés. L'épidémiologie-surveillance est réalisée de juin 1992 à octobre 1996.

### 3.2 RESULTATS-DISCUSSION

Au total 2600 échantillons ont été analysés.

*A posteriori*, on distingua, en fonction des résultats, trois périodes d'observation.

### 3.2.1 Période 1 : inter-épizootique

Au total 495 échantillons ont été prélevés entre Juin 1992 et juin 1994 dans 10 élevages des zones 3, 4 et 5. Les techniques parasitologiques n'ont pas permis de mettre en évidence *T. vivax* pendant cette période. Seul *Megatrypanum* sp. a été identifié par HCT et frottis de buffy coat. Les diagnostics sérologiques permettent de détecter des anticorps dans certains élevages. Les résultats sont reportés au **tableau V**.

La recherche d'anticorps par ELISA-indirecte a fourni 39 résultats positifs, soit une séroprévalence moyenne de 7,8%. Des échantillons positifs sont trouvés dans 7 des 10 élevages; les séroprévalences par troupeau sont généralement inférieures à 10% sauf dans deux élevages où elles atteignent 28 et 50%.

L'élevage B7 présentait une séroprévalence de 56% en 1992. Début 1994, la séroprévalence chez 53 animaux de moins de 15 mois était nulle (lot A), alors que celle dans un lot de 112 animaux de plus de 4 ans (lot B) était de 12%. Le parasite n'aurait donc pas circulé récemment dans ce troupeau (incidence nulle chez les jeunes), on aurait assisté à la chute lente des taux d'anticorps dirigés contre *T. vivax* chez des animaux ayant éliminé le parasite spontanément ou/et à l'aide de traitements à l'acéturate de diminazène (Berenil<sup>ND</sup>); le taux de « stérilisation spontanée » global sur 3 ans est de 44%, soit une moyenne annuelle de 15%. Il est probable que les 12% d'animaux adultes encore positifs soient restés porteurs du parasite depuis l'épizootie de 1989.

*Remarque: le terme de « stérilisation spontanée » est utilisé car il a été démontré par la suite que les souches de T. vivax isolées en Guyane Française sont résistantes à l'acéturate de diminazène, seul « trypanocide » utilisé dans cet élevage.*

### 3.2.2 Période 2 : foyers épizootiques

Par foyer épizootique il faut entendre l'existence de signes cliniques qui sont rapportés à la trypanosomose sur un nombre important d'animaux, avec confirmation du diagnostic au laboratoire. Il n'est pas exclu que le parasite circule de manière occulte pendant des périodes dites « inter-épizootiques ».

Entre juillet 1994 et juin 1995, 463 animaux ont été prélevés dans 11 élevages des zones 2 et 3. Quatre troupeaux ont été prélevés 2 à 3 fois à quelques semaines d'intervalle (169 échantillons supplémentaires), afin de suivre l'évolution des infections. Au total, 632 échantillons ont ainsi été analysés.

À l'aide des techniques parasitologiques, *T. vivax* a été mis en évidence au mois de juillet 1994, dans un troupeau de moutons de la zone 3 (cf. enquête chez les ovins §4). Début septembre le parasite est retrouvé par le SVD dans un troupeau de bovins (B12) voisin de l'élevage M12/B15, dans lequel des signes cliniques d'amaigrissement et d'anémie sont observés. L'enquête qui a suivi sur le terrain, et les alertes données par les éleveurs ont permis de confirmer l'infection active dans 7 élevages bovins sur 11 présentant des signes cliniques évoquant des hémoparasitoses sur un nombre important d'animaux. Tous les élevages trouvés infectés appartiennent à la zone 3 (Kourou), sauf un de la zone 2 (Sinnamary). Les résultats parasitologiques et sérologiques dans les élevages où *T. vivax* a été observé sont indiqués au **tableau VI**. Dans certains lots (élevage B11, lot B), l'incidence sérologique mensuelle a atteint 35% mais la fréquence des prélèvements étant faible, il est possible que les incidences réelles aient été plus élevées ; dans l'ensemble, la séroprévalence à l'issue de la saison sèche est voisine de 100% (élevages B11 à B14).



**Tableau V: Résultats sérologiques de l'épidémio-surveillance sur la trypanosomose bovine menée pendant la période 1**

Élevage	Numéro de Zone	Nombre de bovins prélevés	positifs en ELISA-indirecte <i>T. vivax</i>	séroprévalence
Élevage B1	5	25	0	0%
Élevage B2	5	28	8	29%
Élevage B3	5	9	1	11%
Élevage B4	5	27	2	7%
Élevage B5	4	14	0	0%
Élevage B6	4	37	3	8%
Élevage B7 lot A	4	112	7	12%
Élevage B7 lot B	4	53	0	0%
Élevage B8	3	12	6	50%
Élevage B9	4	141	6	4%
Élevage B10	4	37	6	16%
<b>TOTAL</b>		<b>495</b>	<b>39</b>	<b>7,8%</b>

**Commentaire :** aucune infection active n'a été soupçonnée pendant cette période, la sérologie révèle des infections passées ou aparasitémiques (HCT négatives).

**Tableau VI : Origine des échantillons et résultats des examens parasitologiques et sérologiques de la trypanosomose dans les élevages bovins infectés prélevés pendant la période 2 de l'épidémio-surveillance**

Élevage	date de prélèvement et lot prélevé	nombre de bovins dans le lot et/ou l'élevage	nombre de bovins prélevés	positifs en HCT	% de positifs en HCT	positif en ELISA-indirecte <i>T. vivax</i>	% de positifs en ELISA-indirecte <i>T. vivax</i>
Élevage B11	29/09/94 A	40/300	36	1	3%	1	3%
	18/10/94 A	40/300	38	0	0%	1	3%
	21/10/94 B	70/300	62	12	19%	15	24%
	28/12/94 B	70/300	69	0	0%	64	93%
Élevage B12	14/09/94 A	20/70	15	4	27%	15	100%
	06/10/94 B	30/70	24	5	21%	11	46%
	02/12/94 B	30/70	22	11	50%	14	64%
Élevage B13	06/09/94 A	20/80	13	3	23%	5	38%
	02/12/94 B	60/80	55	3	5%	48	87%
Élevage B14	15/11/94	127	64	6	9%	24	37%
	02/03/95	127	15	4	27%	13	87%
	16/05/95	127	25	0	0%	25	100%
Élevage M12/B15	13/09/94	30	13	0	0%	9	69%
Élevage B5	28/01/95	44	30	1	3%	3	10%
Élevage B9	07/02/95	200	15	1	7%	0	0%
<b>TOTAL</b>			<b>496</b>	<b>51</b>	<b>10%</b>	<b>248</b>	<b>50%</b>

**Commentaires :** Elevage B11 lot A, situation stable de très faible prévalence; lot B foyer de trypanosomose, incidence 68 % en 9 semaines; Elevage B12, lot A totalement infecté, lot B, foyer de trypanosomose, incidence 18 % en 8 semaines; Elevage B 5 et B13, infection active; Elevage B14, foyer de trypanosomose, incidence 72% en 6 mois, totalement infecté à l'issue des prélèvements; Elevage M12/B15, traces sérologiques montrant un taux d'infection élevé ; Elevage B9, nouvellement infecté.

Dans l'élevage mixte M12/B15, les parasites trouvés chez les moutons n'ont pas été observés chez les bovins mais les sérologies révèlent le passage récent de *T. vivax* dans le troupeau (scores de densité optique très élevés et séroprévalence forte : 69%).

Dans trois autres élevages suspects (résultats non détaillés), les 136 diagnostics sur frottis ont révélé 23% de positifs en anaplasmose, avec des parasitémies fortes (zébus) à très fortes (bovins européens importés); l'HCT et l'ELISA-indirecte *T. vivax* étant négatives.

Tous les élevages trouvés infectés par *T. vivax* avaient acquis récemment des animaux d'un troupeau vendu en totalité. Cette enquête a permis d'observer une épizootie multi-focale due à une contamination à partir d'un troupeau mis en vente ou/et à des résurgences à partir de bovins ou d'ovins porteurs du parasite.

L'abondance des Tabanidés a été faible entre juillet et septembre, puis très élevée entre septembre et décembre. L'abondance des stomoxes a été irrégulière, mais ils ont été observés en permanence dans les élevages.

### 3.2.3 Période 3 : post-épizootique

Au total 883 animaux ont été prélevés entre Juillet 1995 et octobre 1996, dans 10 élevages des zones 2 et 3 présentant un total de 2022 têtes. Trois lots ont été prélevés 2 à 8 fois à quelques jours ou semaines d'intervalle, afin de suivre l'évolution des infections actives et/ou évaluer l'efficacité des traitements trypanocides sur le terrain. Au total, 1473 échantillons ont ainsi été analysés. Autant que possible, dans les élevages activement infectés, tous les animaux ont été prélevés, sans distinction d'âge. *T. vivax* a été retrouvé dans 2 élevages (B11 et B15); dans 4 élevages, seules des traces sérologiques de l'infection ont été détectées (B9, 12, 14 et 19), et 4 élevages ont été trouvés indemnes (B5, 7, 17 et 18). La période est qualifiée de post-épizootique, car à la suite d'une épizootie multi-focale (période 2), un seul foyer clinique a été observé dans des conditions particulières de bétail importé de France métropolitaine (élevage B15); dans les élevages de bovins locaux il n'a pas été observé de foyer de trypanosomose, même lorsque le parasite a été détecté (élevage B11). Les résultats sont reportés au **tableau VII**.

**Eleveage B11 :** Cet élevage a été majoritairement infecté par *T. vivax* en 1994 (séroprévalence 93% dans un lot en décembre 1994). En mai 1996, les diagnostics ont été réalisés systématiquement sur les 309 animaux présents, 1 seul a été trouvé porteur de *T. vivax* par HCT et frottis, ceci en l'absence de symptômes, et avec une sérologie anticorps négative, ce qui signe une infection récente. Prélevé un mois et demi plus tard (en juillet) l'animal était en effet positif en ELISA-indirecte *T. vivax*. Le parasite peut donc circuler dans un élevage bovin de manière occulte, et en dehors de la saison maximale d'activité des taons. Les seules espèces observées à l'aurore durant cette période ont été *Chlorotabanus mexicanus* et *Ch. inanis*.

L'animal trouvé porteur du parasite appartenait à un lot de 59 têtes. La séroprévalence des anticorps dans ce lot était de 22% (13/59). Le lot a été prélevé à nouveau 45 jours plus tard, révélant une séroprévalence de 29% (17/59), avec une incidence de 4 cas nouveaux (dont l'animal trouvé porteur lors du premier passage), soit environ 7% en 45 jours (incidence mensuelle moyenne de 4%). La moyenne des hématocrites de ce lot a chuté de 36,5% à 33,3% (significatif à  $p < 0,001$ ) en 45 jours. Sur 309 animaux, lors du premier passage, 92 étaient porteurs d'anticorps (31%). Aucun signe clinique n'a été enregistré dans cet élevage, pourtant un des mieux suivis du Département. Trois mois plus tard, et en l'absence de traitement contre les trypanosomes, un deuxième prélèvement dans l'ensemble du troupeau révèle une séroprévalence



**Tableau VII : Origine des échantillons et résultats des examens parasitologiques et sérologiques de la trypanosomose dans les élevages bovins prélevés pendant la période 3 de l'épidémi-surveillance**

Élevage	date et lot	nombre de bovins dans l'élevage	nombre de bovins prélevés	positifs en HCT	% de positifs en HCT	positif en ELISA-indirecte <i>T. vivax</i>	% de positifs en ELISA-indirecte <i>T. vivax</i>
Élevage B5	Jan-96	44	20	0	0%	0	0%
	Mai-96	44	20	0	0%	0	0%
Élevage B7	Jan-96	400	14	0	0%	0	0%
Élevage B17	Jan-96	60	45	0	0%	0	0%
Élevage B18	Fev-96	350	49	0	0%	0	0%
	Avr-96	370	24	0	0%	0	0%
Élevage B9	Mai-96 A	300	29	0	0%	2	7%
Élevage B9	Mai-96 B	143	140	0	0%	16	11,4%
Élevage B9	Mai-96 C	74	71	0	0%	1	1%
Élevage B12	Jan-96 A	70	16	0	0%	5	31%
	Juin-96 B	60	53	0	0%	0	0%
Élevage B19	Mar-96	20	11	0	0%	2	18%
Élevage B14	Avr-96	127	73	0	0%	26	36%
Élevage B11	Mai-96	309	309	1	0,3%	92	29,7%
	juillet-96	309	59	1	1,7%	13	29%
	Oct-96	309	206	0	0%	82	39,8%
Élevage B15/M12	14 Juin-96 malades	65	12	3	25%	9	75%
	18 Juin-96	65	53	9	17%	28	53%
	25 Juin-96	65	59	13	22%	26	44%
	08 Aou-96	65	45	0	0%	22	49%
	11 Sep-96	65	47	0	0%	22	47%
	10 Oct-96	65	33	0	0%	5	15%
	10 Nov-96	65	34	0	0%	3	8,8%
	05 Dec-96	65	51	1	2%	4	7,8%
<b>TOTAL :</b>			1473	28	1,9%	358	24,3%

**Commentaire :** Elevages 5, 7, 17 et 18 non infectés ; élevages 9, 12, 19 et 14, traces sérologiques seules ; élevage B11, infection active mais asymptomatique, circulation du germe à bas bruit, avec une incidence de 10% en 5 mois ; élevage B15/M12, foyer de trypanosomose dans lequel un traitement au Trypamidium<sup>ND</sup> est instauré le 25 juin 1996 : on peut apprécier la chute de la séroprévalence, de 44% à 8% en 5 mois ; 1 animal aurait échappé au traitement (positif en HCT , sur frottis et en ELISA-indirecte le 5 décembre 1996).

de 40%. L'incidence a donc été d'environ 10% en trois mois sur la totalité de l'élevage (3% par mois).

Un lot de 41 animaux infectés par *T. vivax* en 1994 (issus de l'élevage B13) a été traité au chlorure d'isométymidium (Trypamidium<sup>ND</sup> 1mg/kg IM) en mars 1995, lors de son introduction dans l'élevage B11. 90% des animaux sont sérologiquement négatifs en mai 1996. Les animaux positifs ont probablement été réinfectés de manière asymptomatique à l'issue de la période de protection fournie par la chimioprophylaxie.

**Eleveage B15/M12 :** L'élevage B15/ M12, également infecté par *T. vivax* en 1994, a importé de métropole 23 bovins, fin 1995 et début 1996. Ce bétail n'a reçu aucune prophylaxie particulière. Un foyer de trypanosomose due à *T. vivax* a été observé en juin 1996; des animaux locaux ont été touchés, dont certains ont subi un amaigrissement prononcé (**figure 17 a et b**) ; les animaux récemment importés et pleinement sensibles ont probablement été contaminés à partir du bétail local.

Le diagnostic parasitologique a révélé jusqu'à 25% de portage actif lors des diverses séries de prélèvements (14, 18 et 25 juin 1996). La principale espèce d'insecte hématophage observée dans l'élevage pendant cette période est *Chlorotabanus* sp., supposé responsable de la transmission de *T. vivax*.

Parmi les animaux importés, l'incidence sérologique de la trypanosomose a été de 70% en quelques semaines. Dans l'ensemble du troupeau (animaux locaux et récemment importés), à une occasion, des hyperthermies allant de 39,5°C à 41,4°C ont été enregistrées sur 13 animaux parmi 21 avérés porteurs du parasite. Des chutes de poids atteignant 45Kg par animal en 1 mois (poids moyen du lot 320Kg), soit 14% du poids vif, ont été enregistrées dans le lot de génisse Salers importées en décembre 1995 (**figure 17 c**).

En outre il est intéressant de signaler que dans ce lot, des parasitémies élevées à *T. theileri* ont été enregistrées, avec, chez plusieurs animaux, plus d'une cinquantaine de *T. theileri* par tube à hémocrite ( $>10^4$  trypanosomes/ml) ; il est suggéré que l'immunodépression provoquée par l'infection à *T. vivax* est responsable de cette augmentation de la parasitémie à *T. theileri* ; l'infection initiale par *T. theileri* pouvant être d'origine locale ou métropolitaine. Dans une expérience non publiée, le traitement immunodépresseur à la cortisone (100mg de dexaméthazone/jour, Voren<sup>ND</sup>) pendant 14 jours d'un zébu avéré porteur de *T. theileri* n'a pas permis de dépasser une parasitémie de  $5.10^3$ /ml (DESQUESNES et LA ROCQUE, 1992, non publié). Les scores observés ici sont donc en faveur d'une forte immunodépression provoquée par *T. vivax*.

Un traitement systématique au chlorure d'isométymidium (Trypamidium<sup>ND</sup> 0,5mg/Kg IM) a été appliqué le 25 juillet 1996, puis le troupeau a été suivi régulièrement pendant 7 mois. Les résultats de ces suivis qui visaient à évaluer la persistance des anticorps après le traitement sont présentés et commentés au chapitre 3, dans le cadre de l'évaluation de l'ELISA-indirecte *T. vivax* chez les bovins (§2.4).

### 3.3 CONCLUSIONS

Les bovins agissent comme réservoirs du parasite, puisque plusieurs années après un foyer, on retrouve toujours des animaux séropositifs, en l'absence de signes cliniques et d'observation du parasite.

L'origine de l'épizootie de 1994-95 n'a pu être déterminée avec certitude, deux hypothèses pouvant expliquer les observations qui ont été faites.

La première est que les élevages ont été contaminés par l'introduction de bovins infectés, provenant d'un troupeau dans lequel le parasite était présent de manière peu ou non symptomatique. L'enquête auprès des éleveurs a permis d'établir que la distribution temporelle et géographique des élevages trouvés infectés correspond avec celle des acquisitions de bovins à partir d'un troupeau disséminé par la vente. Toutefois,



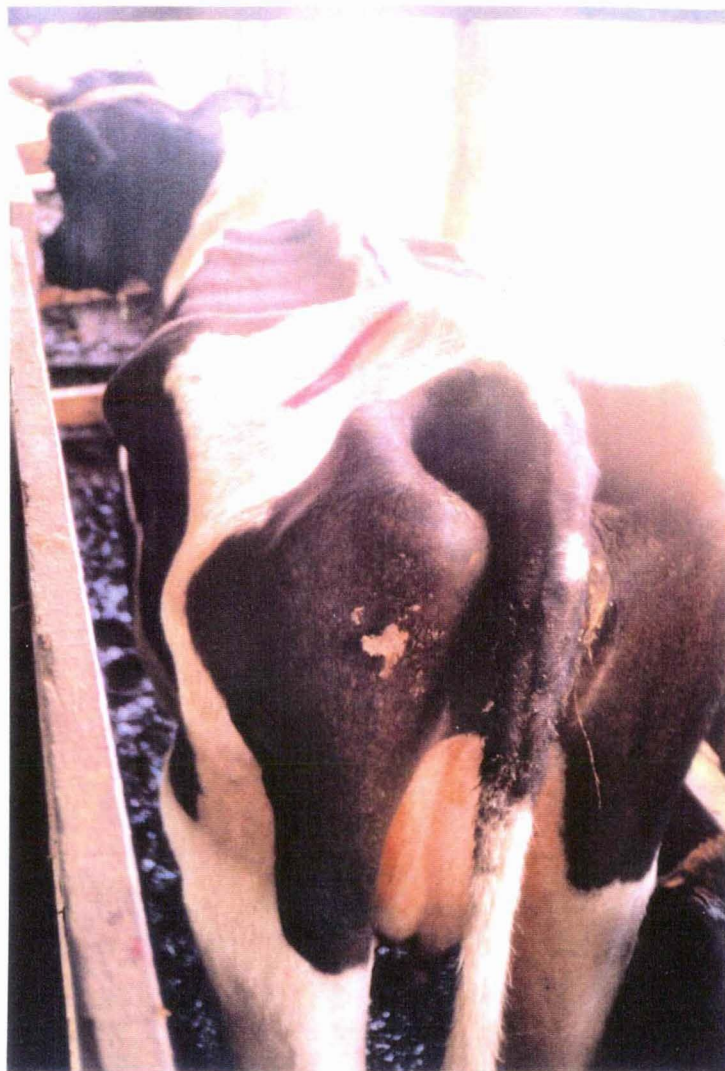
les opérations commerciales et notariales n'ont pas facilité l'accès aux informations, il n'a pas été possible de confirmer définitivement cette hypothèse.

La seconde hypothèse, qui peut être concomitante de la première, est celle de la résurgence à partir des élevages eux-mêmes; à partir des moutons ou des bovins. *T. vivax* ayant circulé de manière occulte dans les élevages de moutons, entre 1992 et 1994 (cf. enquête chez les moutons), on aurait assisté à sa résurgence à partir d'un animal porteur, qui aurait permis la contamination des troupeaux ovins et bovins avoisinants. Dans cette hypothèse, il est plus difficile d'expliquer la distribution simultanée et multi-focale des infections apparentes, d'autant que le climat n'a pas présenté de contraintes particulières par rapport aux années précédentes.

La découverte d'un foyer actif de trypanosomose chez des animaux importés, avec une incidence très élevée pendant une période de l'année où l'activité des Tabanidés est à son minimum indique que l'abondance des vecteurs, même faible, **est toujours suffisante pour une transmission à l'ensemble des animaux**. Elle souligne également la forte sensibilité des animaux récemment importés.

La découverte d'un porteur sur 309 animaux dans l'élevage B11, et de 31% de séropositifs indique que la circulation du parasite n'a probablement pas cessé dans cet élevage depuis le foyer de 1994-95, mais également qu'elle est restée asymptomatique.

Les prévalences parasitologique et sérologique sont respectivement de 0,3% et 31% dans le cas d'une circulation occulte du parasite (élevage B11), et de 25% et 86% dans le cas d'un foyer actif (élevage B15/M12). Ces chiffres illustrent bien la différence entre ces deux types de situations épidémiologiques et soulignent l'intérêt relatif des deux techniques de diagnostic.



**Figure 17 a et b : Vache FFPN introduite depuis plusieurs années dans l'élevage, présentant récemment des symptômes de trypanosomose et un amaigrissement très prononcé (résurgence clinique aiguë d'une infection chronique)**

**Figure 17 : Foyer de trypanosomose due à *T. vivax* chez des bovins européens**





**Commentaire :** certains animaux ont perdu jusqu'à 45kg de poids depuis le déclenchement du foyer de trypanosomose.

**Figure 17 c :** Lot de génisses Salers récemment importées, infectées par *T. vivax* au contact des animaux locaux porteurs chroniques

**Figure 17 :** Foyer de trypanosomose due à *T. vivax* chez des bovins européens (suite)

## 4 ENQUETES SUR LA TRYPANOSOMOSE DES OVINS EN GUYANE FRANCAISE

En parallèle aux travaux chez les bovins, une enquête sérologique rétrospective a été réalisée, et une épidémiolo-surveillance mise en place chez les ovins, soupçonnés de participer à l'épidémiologie de la trypanosomose bovine en Guyane Française.

### 4.1 MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les diagnostics parasitologiques sont réalisés par l'HCT, la BCM, et l'examen de frottis sanguins colorés. L'identification des trypanosomes est faite, à l'état frais, sur les critères de taille et de motilité, et sur frottis, avec les critères de morphologie et de morphométrie décrits par HOARE (1972).

Les diagnostics sérologiques sont réalisés par ELISA-indirecte sur antigènes de *T. vivax* selon la méthode décrite pour les bovins (publication N°1), mais avec un conjugué commercial anti-ovin. La description complète de la méthode est présentée au chapitre troisième (§2), et le protocole indiqué à l'annexe 2.3.

**Période 1 :** Entre janvier 1991 et mars 1993, 189 sérums d'ovins, issus de 17 élevages répartis dans les zones 1 à 4 ont été prélevés, et testés de manière rétrospective pour la recherche d'anticorps dirigés contre *T. vivax*. La répartition géographique des échantillons est indiquée au **tableau VIII**. Les examens parasitologiques n'ont pas été réalisés sur ces échantillons.

**Période 2 :** Entre juillet et septembre 1994, 164 prélèvements sanguins ont été réalisés dans 7 élevages des zones 3 et 4, représentant un total de 556 animaux (29% des animaux ont été prélevés). Des examens parasitologiques et sérologiques ont été réalisés sur ces échantillons.

Lorsque le parasite est observé, les animaux sont prélevés à nouveau quelques semaines plus tard afin d'évaluer l'incidence de l'infection.

### 4.2 RESULTATS ET DISCUSSION

**Période 1 :** Les résultats sérologiques sont tous négatifs dans les 17 élevages prélevés. Ces observations sont contemporaines d'un silence clinique chez les bovins (cf. §1 du présent chapitre).

**Période 2 :** Toujours en période de silence clinique chez les bovins, dans un cas, *T. vivax* a été observé chez les moutons. Le troupeau a été prélevé à nouveau 45 jours plus tard, afin de suivre l'évolution de l'infection au sein de l'élevage. Ce nouveau prélèvement porte à 201 le nombre d'échantillons testés. Dans l'élevage trouvé infecté, les observations entomologiques ont montré la présence générale de *Chlorotabanus* sp. et de stomoxes, mais également de moustiques, en particulier sur les moutons.

Les résultats parasitologiques et sérologiques dans les 7 élevages prélevés sont reportés au **tableau IX**.

#### 4.2.1 Diagnostics parasitologiques

Dans un seul des 7 élevages, 3 échantillons sur 31 étaient positifs à l'HCT lors du premier passage. Il faut souligner que cette observation du parasite est la première signalée depuis 1989, toutes espèces confondues, et qu'elle s'accompagnait de signes cliniques et d'amaigrissement. Lors du deuxième



**Tableau VIII: Origine géographique, date de prélèvement et nombre d'échantillons prélevés dans des élevages de moutons pendant la période 1**

Élevage	Zone géographique	date du prélèvement	nombre d'échantillons prélevés
Élevage M1	3	Avr-91	9
Élevage M2	4	Mai-91	26
Élevage M3	1	Jan-91	5
Élevage M4	2	Fév-91	20
Élevage M5	1	Mar-91	4
Élevage M6	1	Mar-91	6
Élevage M7	2	Mar-93	8
Élevage M8	4	Mai-91	22
Élevage M9	2	Avr-91	10
Élevage M10	4	Mar-92	11
Élevage M11	4	Avr-92	10
Élevage M12	3	Avr-91	21
Élevage M13	3	Déc-91	4
Élevage M14	3	Déc-91	10
Élevage M15	4	Mar-91	12
Élevage M16	4	Mar-92	3
Élevage M17	2	Avr-92	8
<b>TOTAL :</b>			<b>189</b>

**Tableau IX: Origine des échantillons et résultats des examens parasitologiques et sérologiques de la trypanosomose dans les élevages ovins pendant la période 2**

Élevage	date du prélèvement	Zone géographique	nombre de moutons prélevés	positifs en HCT	% de positifs en HCT	positif en ELISA-indirecte <i>T. vivax</i>	% de positifs en ELISA-indirecte <i>T. vivax</i>
Élevage M12/B15	28/07/94	3	31	3	10%	9	29%
	13/09/94	3	37	8	22%	22	59%
Élevage M14	24/08/94	3	34	0	0%	2	6%
Élevage M18	6/09/94	3	9	0	0%	1	11%
Élevage M1	13/09/94	3	12	0	0%	0	0%
Élevage M10	16/09/94	4	30	0	0%	4	13%
Élevage M19	20/09/94	4	8	0	0%	0	0%
Élevage M20	16/11/94	4	40	0	0%	0	0%
<b>TOTAL</b>			<b>201</b>	<b>11</b>	<b>5%</b>	<b>38</b>	<b>19%</b>

**Commentaire :** Des signes cliniques de trypanosomose n'ont été enregistrés que dans l'élevage M12/B15 où *T. vivax* a été observé lors des deux prélèvements, avec des prévalences parasitologiques et sérologiques croissantes, indiquant une incidence sérologique de 30% en 45 jours.

prélèvement, 45 jours plus tard, 8 animaux sur 37 présentaient de fortes parasitémiées. Dans les deux cas, l'identification de *T. vivax* a été faite à l'état frais et sur frottis.

#### 4.2.2 Diagnostics sérologiques

Des sérologies positives ont été enregistrées dans 4 des 7 élevages sondés, avec des prévalences de 6% à 29%. La séroprévalence la plus élevée correspondant au troupeau dans lequel le parasite a été observé. Lors du deuxième passage dans cet élevage (en l'absence de traitement) la séroprévalence atteignait 59%, signifiant une incidence très élevée de l'infection dans le troupeau (30% en 45 jours). L'amaigrissement prononcé des animaux a rendu le recours au traitement impératif; il n'a pas été possible de poursuivre l'observation de l'évolution naturelle de ce foyer de trypanosomose. Selon le témoignage de l'éleveur, aucune introduction de bétail n'avait été faite dans les six derniers mois, mais des moutons ont été rachetés à un élevage soupçonné infecté dans le passé, lors de l'épizootie de 1988, et les bovins de l'élevage avaient été infectés lors de cette épizootie.

Des observations contemporaines chez les bovins de l'élevage M12/B15 ont montré que les animaux étaient également porteurs d'anticorps, avec une forte séroprévalence de 70%. L'origine exacte de ce foyer n'a pu être déterminée; les hypothèses de résurgence à partir d'un des deux troupeaux (ovin ou bovin) sont toutes deux probables.

#### 4.3 CONCLUSIONS

L'observation d'un foyer de trypanosomose à *T. vivax* dans un élevage de moutons a été l'occasion d'apprécier l'excellent support épidémiologique potentiel de cette espèce pour *T. vivax*. Avec une incidence de 30% en 45 jours, pendant une période où l'activité des Tabanidés est encore limitée, et celle des stomoxes moyenne à faible, il apparaît que le mouton est un très bon multiplicateur du parasite et qu'il peut jouer un rôle actif dans l'épidémiologie de *T. vivax*. La transmission au sein du troupeau a probablement été assurée par les Tabanidés crépusculaires du genre *Chlorotabanus* sp., mais on ne peut exclure le rôle des stomoxes, voire des moustiques, également très actifs.

L'incidence sérologique élevée révèle que le troupeau d'ovins était majoritairement non infecté avant cet épisode; toutefois, la résurgence à partir d'un porteur asymptomatique introduit longtemps auparavant, ou le passage aux moutons à partir du troupeau de bovins n'a pu être établi avec certitude. En outre, dans des conditions naturelles d'élevage, il est impossible d'affirmer que l'introduction fortuite d'un animal porteur n'a pas eu lieu.

Bien que des individus porteurs du parasite aient pu ne pas être détectés lors de la première enquête (du fait du nombre très limité d'échantillons prélevés dans chaque élevage), les deux enquêtes réalisées chez les moutons, en 1991-93 et 1994, sont en faveur d'une circulation du parasite entre 1992 et 1994, dans au moins 3 élevages (M10, 12 et 14), sans que des signes cliniques suffisamment éloquentes n'aient alerté les éleveurs. Cette constatation est en faveur du rôle occulte d'entretien, de multiplication et de dissémination de *T. vivax* par les ovins.

Le mouton peut donc être considéré à la fois comme un hôte sensible (élevage 12) et un réservoir occulte du parasite (infections inapparentes dans les élevages 10, 14 et 18) qui pourrait être à l'origine de résurgences; les troupeaux de bovins pouvant alors être contaminés par les troupeaux de moutons, porteurs peu symptomatiques. La contamination réciproque est également possible.



## **5 CONCLUSIONS SUR LA TRYPANOSOMOSE A *T. VIVAX* EN GUYANE FRANCAISE**

### **5.1 REPONSES APPORTEES PAR CES TRAVAUX**

Les suivis mis en place chez les bovins et ovins, les observations cliniques, parasitologiques et entomologiques sur le terrain, l'analyse des données avant, pendant et après les foyers épizootiques de trypanosomose, ont permis d'établir de nouvelles connaissances sur l'épidémiologie de la maladie et d'apporter les réponses à des questions jusqu'alors non résolues, ou de fournir des hypothèses pour la compréhension de l'épidémiologie de la trypanosomose due à *T. vivax* en Guyane Française.

#### **\* Le parasite est-il présent dans les élevages pendant les périodes inter-épizootiques?**

Les ELISA-immunocapture n'étant pas satisfaisantes, la réponse n'a pu être apportée directement. La cinétique des anticorps engendrant une séroconversion négative dans un délai d'environ 3 mois après un traitement curatif stérilisant, il est hautement probable (sauf stérilisation spontanée récente) qu'un animal présentant des anticorps plus de 6 mois après un foyer épizootique soit toujours activement infecté.

Dans l'élevage B6, majoritairement infecté en 1988-89, un an après le foyer épizootique la séroprévalence des anticorps était de 56%. Trois ans plus tard, les taux d'anticorps sont nuls chez les animaux de moins de 16 mois, et de 12% chez les animaux de plus de 4 ans. Ces résultats indiquent que d'une part les bovins infectés peuvent rester porteurs plusieurs années, et de l'autre que, pendant ce temps, le parasite ne circule pas obligatoirement (incidence nulle chez les jeunes).

Dans un autre élevage (B11), sur un lot de 23 animaux ayant présenté une séroconversion positive en décembre 1994, au vu des sérologies anticorps, le taux de portage inapparent est encore de 74% 16 mois après le foyer d'infection.

Chez les bovins, comme chez les ovins, il a été montré que *T. vivax* peut être présent dans les élevages, et passer totalement inaperçu pendant plusieurs mois ou années.

#### **\* Quels sont les réservoirs de *T. vivax* ?**

La participation des moutons à l'épidémiologie de la trypanosomose à *T. vivax* a été appréciée lors des enquêtes épidémiologiques dans cette espèce. selon les élevages, les moutons peuvent être infectés de manière symptomatique ou inapparente. Des travaux complémentaires au laboratoire permettront de confirmer leur capacité à agir comme réservoirs du parasite, à partir desquels des foyers épizootiques peuvent apparaître (chapitre 4, §4). Ovins et bovins sont donc tous deux réservoirs du parasite.

#### **\* Y-a-t-il élimination spontanée du parasite (« self cure » ou « stérilisation spontanée ») ?**

En l'absence de traitement trypanocide, entre 1990 et 1993, la séroprévalence chez 112 reproductrices de l'élevage B9 est passée de 56% à 12%, soit un taux annuel de stérilisation spontanée de 15%. Dans l'élevage B15, sur 23 animaux ayant présenté une séroconversion positive en décembre 1994, six sont retrouvés négatifs en mai 1996, indiquant un taux annuel de stérilisation spontanée d'environ 20%.

#### **\* Le parasite circule-t-il de manière occulte?**

Entre 1990 et 1994 aucune trypanosomose clinique n'a été signalée ou détectée, toutes espèces confondues. En 1993, la trace sérologique du passage de *T. vivax* a été découverte dans trois élevages de moutons pourtant indemnes en 1990.

Dans un élevage bovin exempt de tout symptôme de trypanosomose, *T. vivax* a été découvert chez 1 animal sur 309 testés, dans un lot dont le taux de séroconversion positive atteint 4% par mois. Il est donc avéré, par les seuls examens de laboratoire, que *T. vivax* circule dans les élevages ovins et bovins sans être soupçonné par les éleveurs.

**\* Le parasite circule-t-il en dehors des périodes maximales de transmission (saison des Tabanidés)?**

Dans l'élevage B11, en l'absence de foyer et de symptômes apparent de trypanosomose, un animal est trouvé porteur de parasite en mai 1996, avec une sérologie négative. Le lot auquel il appartient présente alors 22% de séropositifs; 1,5 mois plus tard le taux de séropositifs est passé à 29%, et l'animal trouvé porteur lors du premier passage est devenu positif. Il apparaît que *T. vivax* peut circuler de manière occulte dans ce troupeau avec une incidence mensuelle assez faible (4%).

A la même période, un foyer de trypanosomose clinique se déclare sur des animaux naïfs dans un élevage (B15) dont les paramètres zootechniques sont insuffisants (alimentation en particulier); dans ce cas l'évolution est clinique et l'incidence atteint 70% en quelques semaines. En l'absence de traitement il est probable que l'incidence eût atteint 100% dans ce lot, voire dans l'ensemble de l'élevage. Ces remarques, ajoutées aux observations faites pendant les foyers épizootiques, indiquent que la trypanosomose peut circuler en toutes saisons. Durant la saison des pluies, les agents de transmission les plus probables sont les stomoxes et les espèces crépusculaires de Tabanidés *Chlorotabanus mexicanus* et *Ch. inanis*, avec une participation éventuelle des moustiques chez les moutons.

**\* Les examens parasitologiques seuls permettent-ils de détecter l'infection?**

Il apparaît que lors de trypanosomose maladie, le diagnostic par examen direct est aisé; ainsi dans l'élevage B15, 20% des examens parasitologiques sont positifs lors des 3 passages à quelques jours d'intervalle. En revanche, lorsque la trypanosomose est asymptomatique, elle est accompagnée de parasitémies très basses et fluctuantes; l'exemple de l'élevage B11 est éloquent, le prélèvement systématique de 309 animaux n'a permis de détecter le parasite que chez un seul animal.

En dehors des foyer symptomatiques, les examens parasitologiques sont donc insuffisamment sensibles, et doivent être accompagnés voire remplacés, par une sérologie anticorps (ELISA-indirecte).

**\* L'incidence de l'infection varie-t-elle avec les saisons?**

Lors des épizooties antérieures à 1989, la trypanosomose maladie n'était signalée que pendant la deuxième partie de la saison sèche (octobre à décembre), il a été supposé que les animaux furent infectés durant la saison sèche.

Lors du foyer épizootique de 1994/95 l'incidence sérologique dans les troupeaux suivis a été voisine de 100% en quelques semaines; la pullulation des Tabanidés a aisément expliqué une telle incidence. Lors de ces observations, des séroconversions ont été enregistrées de **juillet à mars**.

En 1996, un foyer important avec une incidence très élevée a été observé aux mois de **mai-juin** dans un élevage d'importation.

Compte tenu du comportement de regroupement du bétail sous l'effet des attaques des insectes piqueurs, il est concevable que l'incidence de l'infection atteigne 100% en quelques jours, **quelle que soit la saison**. La pression vectorielle, même faible, ne serait donc jamais un facteur limitant de l'infection.



### **\* L'incidence de la trypanosomose maladie varie-t-elle avec les saisons?**

Si la transmission de la maladie est possible en toute saison, en revanche, la réceptivité des animaux varie et passe par un maximum au moment de la saison sèche. La recrudescence des cas de trypanosomose maladie observés le plus souvent pendant la saison sèche serait donc davantage due à l'immunodépression des hôtes (alimentation et abreuvement insuffisants) qu'à l'hyper-abondance des vecteurs.

En règle générale, dans un élevage où les paramètres zootechniques sont maîtrisés, on observe une incidence clinique mensuelle très élevée (>80%) pendant la saison maximale d'activité des Tabanidés. Lors de l'épizootie de 1994-95, on a observé que l'incidence clinique a crû en juillet-août, est passée par un maximum en octobre-novembre, a décroché en mars-avril, et s'est annulée en juin. En revanche, dans un élevage où les paramètres zootechniques ne sont pas satisfaisants, et où la réceptivité des animaux est totale (animaux récemment importés), l'incidence clinique peut atteindre 100% au moment où l'activité des Tabanidés est à son minimum (exemple de l'élevage B15).

Pendant la saison sèche, il apparaît que l'incidence de la trypanosomose maladie est toujours très élevée, voisine de 100%. Pendant la saison des pluies, elle dépend de l'état général des animaux et de l'ensemble des paramètres d'élevage, en particulier de l'alimentation.

En définitive la trypanosomose due à *T. vivax* apparaît comme une menace permanente des élevages bovin et ovin, qui se traduit par une circulation inapparente de l'infection lorsque les paramètres zootechniques de l'élevage sont satisfaisants, et, dans le cas contraire, par des foyers épizootiques avec signes cliniques prononcés.

## **5.2 SYNTHÈSE DES DONNÉES RECUEILLIES**

La trypanosomose affecte les bovins européens, les zébus et leurs croisements, ainsi que les ovins, bien que dans cette espèce, les signes cliniques frustes, et des suivis zootechniques très sommaires permettent rarement de mettre les éleveurs en alerte.

La périodicité des épizooties chez les bovins (tous les 3 à 5 ans environ) n'a jusqu'alors pu être mise en relation directe avec les paramètres climatiques ou entomologiques étudiés.

La rupture d'équilibre entre la proportion d'animaux porteurs et non porteurs d'une part, et la qualité zootechnique de l'élevage qui se traduit par la compétence immunitaire des animaux pourraient expliquer en partie cette périodicité. En effet, le taux de stérilisations spontanées a pu être estimé dans deux élevages ; selon ces observations, il serait d'environ 15% à 20% par an. La circulation occulte du parasite est, elle, très variable, puisque selon les élevages l'incidence inter-épizootique est nulle ou atteint 4% par mois, en l'absence de signes cliniques.

Une hypothèse qui permettrait de comprendre la périodicité de 3 à 5 années observée entre chaque épizootie multi-focale serait le passage graduel de l'ensemble des troupeaux du statut infecté qui résulte de chaque épizootie, à un statut immunitaire moins favorable, lorsque moins de 30 à 40% des animaux seraient encore porteurs du parasite (et donc immuns). En appliquant le taux annuel de stérilisation spontanée de 20% à un troupeau infecté à 100%, le portage inapparent passerait sous la barre des 40% 3 à 4 années après le foyer épizootique, expliquant en partie la périodicité tri-, quadri- ou quinquennale observée.

L'entrée du parasite dans les élevages résulte de l'introduction de bétail infecté. Le stress de transport pourrait être à l'origine d'une résurgence de la parasitémie sur ces animaux qui deviendraient donc potentiellement contaminants. Les conséquences de la transmission du parasite dépendraient alors du statut immunitaire du troupeau d'accueil, la maladie passant inaperçue si en majorité les animaux sont porteurs de *T. vivax*, ou, au contraire, l'infection étant très apparente, si la majorité des animaux sont indemnes. L'intensité des symptômes varie selon l'état immunitaire spécifique des animaux et le niveau zootechnique de l'élevage, allant d'une circulation lente et inapparente jusqu'à des foyers symptomatiques drastiques, en passant par des formes intermédiaires larvées, ou se présentant sporadiquement à l'intérieur du troupeau.

L'impact relatif des Tabanidés et autres insectes hématophages sur l'élevage laisse entrevoir leur importance à la fois comme insectes nuisibles, et comme agents de transmission des trypanosomoses. L'étude menée en Guyane Française montre que l'impact économique direct des Tabanidés est plus important que leur impact indirect (cf. **annexe 1.2**) et qu'une très faible pression vectorielle suffit à assurer la transmission de *T. vivax*. Le concept de lutte contre les Tabanidés doit donc être compris comme une lutte contre le principal facteur favorisant de l'expression clinique de la trypanosomose et de l'anaplasmose (voire des autres hémoparasitoses).

Une synthèse plus complète sur l'épidémiologie et le contrôle de *T. vivax* en Guyane Française est présentée en fin d'ouvrage, au terme de l'ensemble des travaux.

## 6 ENQUETES EPIDEMIOLOGIQUES DANS LES GUYANES ETRANGERES

### 6.1 INTRODUCTION

Bien que des enquêtes préliminaires sur la trypanosomose des ruminants aient été réalisées au Suriname (VAN VLAENDEREN, 1996) et au Guyana (APPLEWHAITE, 1990; VOKATY *et al.*, 1993), des enquêtes de plus grande envergure étaient nécessaires pour mieux connaître la prévalence des trypanosomoses, l'importance relative des autres hémoparasitoses, et permettre l'évaluation de leur impact économique. Jusqu'à récemment, les trois Guyanes n'avaient entretenu officiellement que peu de relations, probablement du fait des barrières linguistiques. Les populations riveraines des fleuves ne connaissent cependant pas de frontières, et les importants passages clandestins, motivés par le contraste surprenant de l'économie de ces pays, représentent un risque sanitaire potentiellement considérable. Conscients de ces problèmes, à l'initiative de l'IICA<sup>15</sup>-Guyana et Suriname, et du CIRAD-EMVT-Guyane, avec les responsables des Services Vétérinaires de ces trois pays une collaboration a été mise en place, visant dans un premier temps à évaluer la situation épidémiologique des hémoparasitoses des ruminants. Les détails de la mise en place et du fonctionnement du réseau d'information sur les hémoparasitoses dans les Guyanes sont exposés dans la **publication N°2 (annexe 1.4)** : « Haemoparasite Information Network for the Guyanas ; TRYPNET » (VOKATY, DESQUESNES, *et al.*, 1996) et les publications de VOKATY, DESQUESNES *et al.*, 1994 et 1995, ainsi que dans des documents non publiés (DESQUESNES et LA

---

<sup>15</sup> Inter-American Institute for Cooperation in Agriculture



ROCQUE, 1994 a ; DESQUESNES et TRESSE, 1995 b) ; ils sont résumés à l'**annexe 1.5**. L'enquête épidémiologique sur les hémoparasitoses bovines dans les Guyanes étrangères est présentée ci-après.

## **6.2 MATERIEL ET METHODE D'ENQUETE**

A la suite de l'enquête épidémiologique réalisée en Guyane Française, divers outils de diagnostic utilisables localement ont été identifiés. En 1993, avec l'aide des partenaires susmentionnés, une enquête épidémiologique centralisée par le Laboratoire de Référence des Hémoparasitoses à Cayenne (laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane ) a été entreprise à l'aide de ces outils de diagnostic. Plusieurs sessions de formation aux techniques de diagnostic de laboratoire des hémoparasitoses ont été organisées et documentées (DESQUESNES et TRESSE, 1995 a) pour le personnel des laboratoires des Services Vétérinaires du Guyana et du Suriname (**Figure 18 a et b**), puisqu'un des objectifs du programme était la remise à niveau de ces laboratoires.

### **6.2.1 Collecte et échantillonnage**

**Collecte** : Au Suriname et au Guyana, les prélèvements de sang de bovins sont effectués par les agents des Services Vétérinaires à l'abattoir; le sang est collecté sur héparine pour les diagnostics parasitologiques et sur tube sec pour la sérologie. L'échantillonnage est réalisé en sélectionnant les animaux au hasard, lors de leur passage à l'abattoir. Cette méthode pose le problème de l'échantillonnage biaisé (âge et sexe des animaux destinés à l'abattage), et celui d'une identification peu rigoureuse des animaux car seul le marquage par le fer est pratiqué dans ces pays. Une région d'un intérêt particulier, le Rupununi, a fait l'objet de prélèvements sur le terrain lors d'une mission commune EMVT/IICA/Service Vétérinaire du Guyana, en mai 1995.

**Echantillonnage** : Le découpage par secteur des Guyanes étrangères a été réalisé conformément aux régions administratives définies dans chaque pays (**figure 19**).

Pour chaque région, le nombre théorique de bovins à prélever (n) dans une population grande (N) pour évaluer la prévalence (P) d'une maladie est estimé à partir des formules suivantes (MARTIN *et al.*, 1987):

$$n = 4 \cdot pq / L^2 \quad (p = \text{prévalence estimée}; q = 1 - p ; L = \text{erreur autorisée ou précision requise, ici 5\%})$$

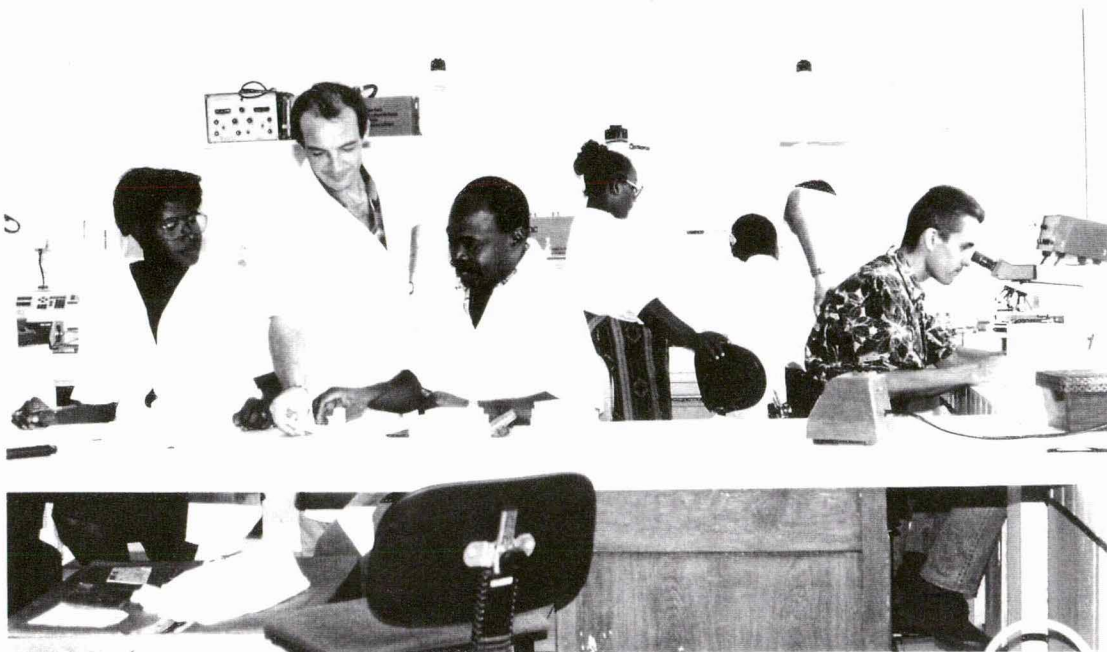
Lorsque « n » calculé est inférieur à N, on prend « n' » tel que :  $n' = (n \times N) / (n + N)$ .

### **6.2.2 Diagnostics sur place**

Il est dévolu aux Services Vétérinaires du Guyana et du Suriname de réaliser le test de WOO, la lecture de frottis, et le CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup> pour la recherche d'anaplasmes et de trypanosomes. Frottis et échantillons de sérum (préparés en double) sont acheminés sous froid au laboratoire de l'EMVT.

### **6.2.3 Diagnostics au Laboratoire de Référence**

Afin de juger de la validité des diagnostics et de la reproductibilité des tests, le Laboratoire de Référence effectue une nouvelle lecture des frottis ainsi que le CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup> et réalise de plus une ELISA- indirecte *T. vivax*, et, pour les échantillons positifs au test de WOO, des diagnostics par PCR avec



**Figure 18 a, légende :** de droite à gauche au premier plan : Jean ISSALY, technicien CIRAD-EMVT-Guyane ; Edmund ROZENBLAD, Directeur des Services Vétérinaires du Suriname ; M. DESQUESNES, responsable exécutif du CIRAD-EMVT-Guyane ; Maxine PARRIS, responsable du laboratoire des Services Vétérinaires du Guyana.



**Figure 18 b, Légende :** de droite à gauche au premier plan : Jean ISSALY ; Mavis GEORGES, technicienne du laboratoire des Services Vétérinaires du Guyana ; Laurent TRESSE, V.A.T. vétérinaire du CIRAD-EMVT-Guyane ; Maxine PARRIS.

**Figure 18 : « Advanced Haemoparasite Diagnostic Training Course »  
laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane, Institut Pasteur, Cayenne (juillet 1995)**



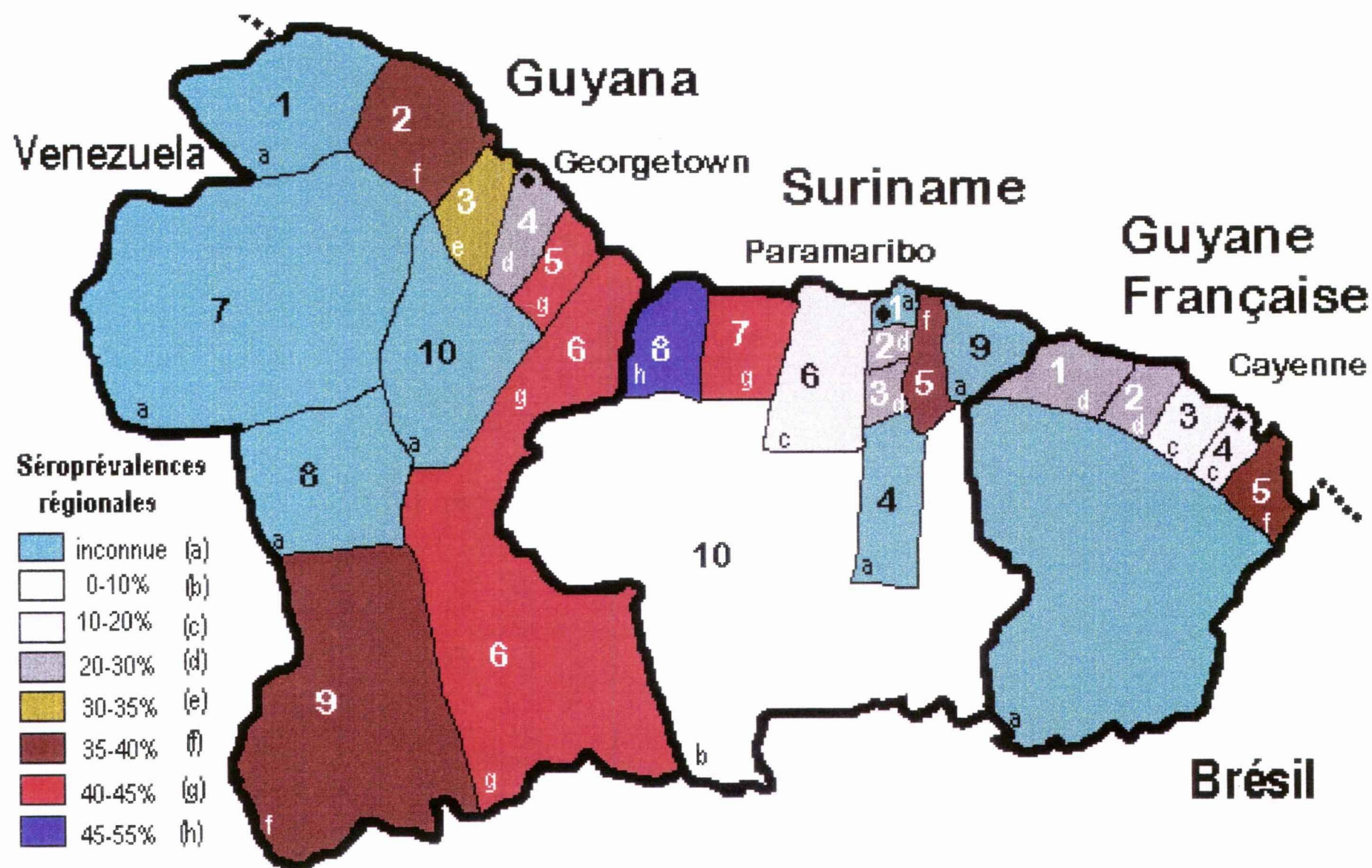


Figure 19 : Découpage régional et séroprévalences de la trypanosomose bovine dans les 3 Guyanes

les amorces spécifiques pour *T. vivax*, *T. brucei*, *T. cruzi* comme indiqué au chapitre 3 (§4).

Les résultats obtenus sont enregistrés, analysés et communiqués aux pays d'origine.

Des échantillons de sérum sont transmis au Service Vétérinaire Départemental de la Guyane Française pour les diagnostics de brucellose, leucose et éventuellement fièvre aphteuse.

## **6.3 RESULTATS**

### **6.3.1 Echantillonnage**

Pour le Suriname et le Guyana, la prévalence attendue a été estimée à 30%, sur la base des résultats précédemment obtenus dans les Guyanes; le nombre d'échantillons nécessaires au sondage d'une région a donc été estimé à 336 quand sa population bovine est supérieure à ce nombre.

Les **tableaux X et XI** indiquent par région administrative, le nombre d'animaux à prélever, prélevés, ou restant à prélever, dans les différentes régions administratives des deux pays, en date du 1<sup>er</sup> juin 96.

En juin 1996, au total 1819 animaux ont été prélevés au Suriname, dont 405 d'origine indéterminée, et 1113 animaux ont été prélevés au Guyana, dont 215 d'origine indéterminée.

### **6.3.2 Examens parasitologiques directs**

#### **6.3.2.1 Trypanosomes**

Avec l'HCT, au Suriname on retrouve 6,7% de positifs, soit 116 échantillons sur 1739 diagnostics réalisés ; aucune parasitémie élevée n'a été détectée par HCT, 1 seul frottis est trouvé positif au Suriname, alors que 3 sont positifs lors de leur lecture au Laboratoire de Référence.

Au Guyana on a observé des trypanosomes dans 2,75% des cas, soit 27 sur 980 ; seulement 2 parasitémies élevées ont été enregistrées et attribuées à *T. vivax* (HCT), mais le parasite a été identifié sur 3 frottis lus au Guyana, alors que 5 sont positifs lors de leur lecture au Laboratoire de Référence.

Dans la majorité des cas les trypanosomes observés en HCT n'ont pu être identifiés. Il s'agissait probablement de *Megatrypanum* sp., supposé être *T. theileri*. Les parasitémies observées dans les conditions naturelles sont très faibles ; ainsi il n'a jamais été observé plus d'une dizaine de parasites par tube à hématocrite (soit moins de 1500 parasites/ml).

Enfin, aucun *T. evansi* n'a pu être observé sur l'ensemble des prélèvements.

#### **6.3.2.2 Anaplasmes**

Au Suriname 2 lots ont été traités par des techniciens différents. On retrouve 38 frottis positifs sur 459 soit 8,3% de positifs dans le premier lot. Sur le deuxième lot de 259 frottis, 131 sont positifs soit un taux de 50,6%; la prévalence moyenne des deux lots est de 23,5%. Au Laboratoire de Référence, 257 frottis sur 792 observés sont positifs, soit une prévalence de 32,4%.

Pour le Guyana, 308 frottis ont été lus localement, donnant 78 positifs, soit une prévalence de 25,3%. Les recherches d'anaplasmes réalisées au Laboratoire de Référence ont confirmé ces résultats et révélé 178 frottis positifs sur les 873 observés, soit 20,4%.



**Tableau X: Population bovine, échantillonnage théorique et effectif des bovins, par région, au Suriname**

		nombre bovins dans la région	de nombre théorique bovins à tester	nombre de bovins prélevés 1/6/96	de nombre bovins au restant prélever	de à
Paramaribo	1	0	0	0	0	
Wanica A	2A	11210	336	71	265	
Wanica B	2B	30480	336	237	99	
Wanica C	2C	12510	336	112	224	
Para	3	8400	336	145	191	
Brokopondo	4	1165	336	0	336	
Commewijne	5	9922	336	255	81	
Saramacca	6	6437	336	243	93	
Coronie	7	2067	336	55	281	
Nickerie	8	14220	336	253	83	
Marowyne	9	214	130	0	130	
Sipaliwini	10	975	336	43	293	
Région indéterminée		...	...	405	...	
<b>Total</b>		<b>97600</b>	<b>3490</b>	<b>1819</b>	<b>2076</b>	

**Tableau XI: Population bovine, échantillonnage théorique et effectif des bovins, par région, au Guyana**

		nombre bovins dans la région	de nombre théorique de bovins à tester	nombre bovins prélevés 1/6/96	de nombre bovins au restant prélever	de à
Barima-Waini	1	***	***	***	***	
Pomeroon-Supenaam	2	9400	336	18	318	
Essequibo Islands	3	36000	336	87	249	
Demerara-Mahaica	4	11000	336	108	228	
Mahaica-Berbice	5	111000	336	179	157	
East Berbice-Corentyne	6	90000	336	155	181	
Cuyuni-Mazaruni	7	***	***	***	***	
Potaro-Siparuni	8	***	***	***	***	
Rupununi	9	10000	336	338	0	
Upper Demerara-Berbice	10	4000	336	13	323	
Région indéterminée		...	...	215	...	
<b>Total</b>		<b>267400</b>	<b>2352</b>	<b>1113</b>	<b>1456</b>	

\*\*\* données non disponibles

### 6.3.3. CATT test *T. evansi* <sup>ND</sup>

Le test a été effectué dans le pays d'origine ainsi que dans le Laboratoire de Référence. 341 échantillons ont été testés au Suriname, et 435 au Guyana, donnant respectivement des séroprévalences de 19% et 39 %. Les 341 échantillons du Suriname et 297 échantillons du Guyana ont été testés en double au Laboratoire de Référence. Les résultats sont indiqués au **tableau XII**. Pour les deux pays les prévalences trouvées dans les deux laboratoires sont très voisines, en revanche, la reproductibilité individuelle des tests n'a été que de 71%, ce qui a justifié l'étude présentée au chapitre 3 (§2.2).

### 6.3.4 ELISA-indirecte *T. vivax* et PCR

**Résultats généraux des ELISA-indirectes *T. vivax*** : Au Suriname, sur 1780 échantillons étudiés 581 sont positifs à l'ELISA-indirecte *T. vivax*, soit un taux de 32,6 +/- 2,2% (intervalle de confiance au risque de 5%). Au Guyana, sur 1096 échantillons, 415 sont positifs, soit un taux de 37,8% +/- 2,9%.

**Résultats par région** : Les résultats par région sont indiqués aux **tableaux XIII et XIV**.

La répartition régionale de la trypanosomose dans les trois Guyanes est illustrée à la **figure 19**. Les résultats indiqués pour la Guyane Française sont ceux de l'enquête de 1990-92.

**Résultats des PCR** : Sur 143 échantillons positifs en HCT, 3 échantillons du Guyana et 2 du Suriname ont fourni des diagnostics positifs avec les amorces spécifiques de *T. vivax* (TVW 1 & 2) ; ces échantillons étaient également positifs sur frottis. Avec les autres amorces, aucun résultat positif n'a été enregistré. Cette technique de PCR directe sur sérum est insuffisamment sensible, d'autres techniques de préparation des échantillons seront proposées par la suite (cf. chapitre 2) pour être appliquées sur le terrain.

## 6.4 DISCUSSION

La lecture des frottis ne présente pas la même sensibilité selon les laboratoires. Pour l'anaplasmosse, la sensibilité du test a été plus faible au Suriname, mais la spécificité reste bonne. Pour la trypanosomose, des échantillons négatifs à l'HCT dans les laboratoires des Guyanes étrangères sont positifs sur frottis au Laboratoire de Référence, révélant une mauvaise qualité de l'examen par HCT qui est normalement plus sensible que la lecture de frottis. Ces variations sont essentiellement attribuées à l'expérience des techniciens et à la qualité des appareils optiques utilisés.

En sérologie, certaines prévalences régionales sont statistiquement différentes des autres régions ou des moyennes nationales. On observe que la prévalence des anticorps anti-*Trypanosoma* sp. est plus faible dans les régions périurbaines de Georgetown et Paramaribo (de même pour Cayenne lors de l'enquête épidémiologique Départementale, en 1990-92), et que les prévalences les plus élevées sont enregistrées aux frontières des pays. Malheureusement la région ouest du Guyana, et la région du Suriname mitoyenne de la Guyane Française ne sont pas documentées. Pour cette dernière, la population bovine est officiellement très faible (214 animaux); cette estimation paraît très inférieure à la réalité, en particulier eu égard aux passages clandestins de bovins sur pied ou en carcasse du Suriname vers la Guyane Française (FOUQUET, DSV Guyane, communication personnelle). Les prévalences très basses enregistrées dans les régions forestières s'expliquent probablement par la très faible densité de la population bovine et de



l'absence de contact entre les cheptels; en outre, les échantillonnages sont souvent insuffisants dans ces régions d'accès difficile.

Certaines régions ne sont pas du tout documentées, c'est le cas des régions 1, 7, 8 et 10 du Guyana; qui possèdent un faible potentiel de production (régions forestières 7, 8 et 10), et/ou réalisent l'abattage sur place, sans passer par l'abattoir de la capitale. De même, au Suriname, les régions 4 et 9 ne sont pas documentées. Il faudrait réaliser des prélèvements dans les élevages, ce que les Services Vétérinaires locaux ne sont pas en mesure de réaliser.

Dans d'autres régions, l'échantillonnage est encore insuffisant pour déterminer la prévalence avec une marge d'erreur acceptable, c'est le cas de la région 3 du Suriname pour laquelle l'intervalle de confiance est de 30,5 à 56,7%, de la région 10 pour laquelle 1 seul échantillon est positif (sur 43), et de la région 2A du Guyana pour laquelle l'intervalle de confiance est de 16 à 61%.

La prévalence nationale pondérée est calculée en tenant compte du nombre de bovins présents dans chaque région par rapport à la population totale. On trouve ainsi des prévalences pondérées de **31 +/- 2%** pour le Suriname et **42 +/- 3%** pour le Guyana (contre **22,2 +/- 1,5%** en Guyane Française selon l'enquête réalisée 1990-92 par DESQUESNES et GARDINER, 1993).

## **6.5 CONCLUSION**

La mise en place du Laboratoire de Référence et du Réseau d'informations sur les hémoparasitoses dans les Guyanes a été l'occasion de mettre en relation permanente les Services Vétérinaires de trois pays, l'IICA du Guyana et du Suriname et le CIRAD-EMVT-Guyane, et a permis de structurer un réseau de collecte d'échantillons, d'informations, et d'entreprendre la remise à niveau et l'équipement des laboratoires des Services Vétérinaires du Suriname et du Guyana, largement éprouvés, par les difficultés économiques de ces pays. En outre cette collaboration a permis d'organiser trois réunions des directeurs des Services Vétérinaires des Guyanes, ainsi que le « Premier Symposium sur les Trypanosomoses dans le Nouveau Monde ». Le compte rendu de ce symposium (*proceedings*) sera publié courant 1997.

Techniquement, l'enquête montre de grandes difficultés à obtenir une qualité constante dans la réalisation des examens, et, en conséquence, des résultats reproductibles d'un laboratoire à l'autre. La qualité des frottis préparés dans les Guyanes étrangères a souvent été mauvaise, pour des raisons pratiques multiples ; les ruptures d'approvisionnement en eau provoquent des rinçages déficients, les ruptures d'approvisionnement en électricité ou l'absence de climatisation provoquent l'apparition de moisissures sur les lames de microscope et dans les appareils optiques, ou l'altération des frottis par des insectes (mouches, fourmis) etc. La crainte de manquer de réactifs engendre une utilisation abusive des mêmes colorants sans renouvellement régulier, etc.

En outre la motivation personnelle de certains techniciens est faible car les salaires des fonctionnaires sont très bas (un vétérinaire de l'état gagne moins de 500FF par mois dans les Guyanes étrangères). Toutefois, des responsables de projet ont été identifiés, dont les motivations sont suffisantes pour espérer obtenir des améliorations substantielles. Les réunions et symposiums ainsi que les missions de formation sur place et à l'étranger sont des éléments déterminants de la motivation du personnel technique qui trouve ainsi une reconnaissance et un intérêt nouveau dans l'exercice de leurs fonctions. La perspective d'une mise à niveau des trois pays, tant sur le plan sanitaire que sur le plan technique est la motivation nécessaire et suffisante.

Tableau XII: Résultats comparés des CATT tests *T. evansi*<sup>ND</sup> réalisés dans 2 laboratoires

Origine des échantillons	Laboratoire des Services Vétérinaires des pays d'origine	Laboratoire de référence en Guyane Française
Suriname	63 positifs /341 = 18,5%	64 positifs /341 = 18,8%
Guyana	133 positifs /297 = 44,8%	146 positifs/297 = 49,2%

Tableau XIII: Echantillonnage et résultats des ELISA-indirectes *T. vivax* dans les régions du Suriname

Nom et numéro de région		nombre de bovins testés	nombre de positifs	% de positifs	intervalle de confiance
Wanica A	2A	67	20	29,8%	19,2 à 40,4
Wanica B	2B	234	56	23,9%	18,5 à 29,3
Wanica C	2C	97	27	27,8%	19,5 à 36,1
Para	3	142	40	28,2%	20,9 à 35,5
Brokopondo	4	0	***	***	***
Commewijne	5	255	94	36,9%	31 à 42,8
Saramacca	6	239	47	19,7%	14,7 à 24,7
Coronie	7	55	24	43,6%	30,5 à 56,7
Nickerie	8	249	138	55,4%	49,3 à 61,5
Marowijne	9	0	***	***	***
Sipaliwini	10	43	1	2,3%	non significatif

\*\*\* données non disponibles

Tableau XIV: Echantillonnage et résultats des ELISA-indirectes *T. vivax* dans les régions du Guyana

Nom et numéro de région		nombre de bovins testés	nombre de positifs	% de positifs	intervalle de confiance
Pomeroon-Supenaam	2	18	7	38,8%	16,3 à 61,3
Essequibo Islands	3	84	28	33,3%	23,2 à 43,4
Demerara-Mahaica	4	107	28	26,2%	17,9 à 34,5
Mahaica-Berbice	5	168	75	44,6%	37,1 à 52,1
East Berbice-Corentyne	6	155	72	46,5%	38,7 à 54,3
Rupununi	9	338	131	38,7%	33,5 à 43,9
Upper Demerara-Berbice	10	13	4	30,7%	non significatif



Les résultats généraux des enquêtes montrent des séroprévalences en trypanosomose de 31 % pour le Suriname, 42 % pour le Guyana, et 22% pour la Guyane Française, soit une infestation assez forte du cheptel bovin, dont les prévalences sont croissantes d'est en ouest. La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* dans les Guyanes étrangères est étudiée dans la partie suivante (§7).

Pour l'anaplasmosse, la lecture des frottis fait apparaître des prévalences élevées, de 20,4 % au Guyana, et 32,4% au Suriname. Une méthode de diagnostic sérologique fournirait des prévalences plus précises de l'anaplasmosse, mais aucun examen sérologique satisfaisant n'est à ce jour disponible sur le marché ou dans les laboratoires de recherche.

Les prévalences cliniques des hémoparasitoses sont difficiles à évaluer puisque les Services Vétérinaires du Guyana et du Suriname sont peu présents sur le terrain. La collecte d'informations au cours de missions sur le terrain, permet toutefois de considérer que dans certains troupeaux 20 à 40% des animaux sont cliniquement atteints par les hémoparasitoses. Parmi les raisons pour lesquelles l'impact clinique des hémoparasitoses est plus important au Guyana et au Suriname, figurent l'insuffisante prophylaxie contre les helminthes, la carence du diagnostic de laboratoire et l'absence de traitement des animaux cliniquement atteints, les insuffisances alimentaires, et la grande importance du cheptel laitier de type européen, plus sensible que le zébu.

En ce qui concerne la répartition régionale de la trypanosomose, les chiffres obtenus ne donnent pour l'instant qu'une indication des séroprévalences ; il faudra attendre la fin de l'enquête pour disposer d'indications plus précises qu'il faudrait affiner par des observations de terrain. L'effort doit principalement être poursuivi dans les régions frontalières des trois Guyanes dont les séroprévalences en trypanosomose sont les plus fortes (l'échantillonnage devrait donc être plus important pour être représentatif). Compte tenu des échanges de bétail licites ou non, effectués entre ces pays, l'étude précise de la situation sanitaire aux frontières devrait permettre d'établir les mesures de contrôle qui devront être appliquées.

## **7 TRYPANOSOMA EVANSI DANS LES GUYANES ETRANGERES**

*Trypanosoma evansi* n'a jamais été isolé au Guyana ou au Suriname, mais sa présence a parfois été soupçonnée au Guyana. Le parasite est présent et sévit de manière enzootique au Venezuela (WELLS, 1970 et 1984), et, probablement, dans le Nord du Brésil. Son étude dans les Guyanes étrangères a donc été réalisée en parallèle aux autres enquêtes.

### **GUYANA**

**Région sud :** *T. evansi* aurait été introduit au Guyana par le Brésil (HOARE, 1972) au siècle dernier, mais son existence n'est pas signalée depuis 1970. A cette époque, une épizootie de trypanosomose chez les chevaux a été signalée par les éleveurs et vétérinaires, dans le Rupununi. Cette épizootie a été attribuée à *T. evansi*, au vu des descriptions cliniques qui en ont été faites (informations collectées auprès des éleveurs, techniciens et vétérinaires locaux). Aux dires des éleveurs rencontrés, les symptômes observés chez les chevaux n'ont plus été signalés depuis cette époque. Précisons que les voies de communication terrestres entre le Nord du Guyana et le Rupununi sont actuellement peu praticables, et qu'en outre, les économies relatives des pays sont en faveur d'un commerce du bétail depuis le Rupununi vers le Brésil et non le

contraire. Le flux commercial n'est donc pas favorable à une contamination du nord par le sud. Plus récemment, les recherches parasitologiques effectuées chez les moutons sont restées infructueuses (APPLEWHAITE, 1990).

Dans le cadre des activités du réseau d'information, les recherches d'anticorps anti-*Trypanosoma* sp. réalisées chez des bovins du Rupununi n'ont pas montré une séroprévalence significativement différente de la moyenne nationale (§6).

Au cours des prélèvements réalisés par l'auteur et collaborateurs dans la région du Rupununi, les échantillons positifs au test de WOO ont été retenus pour inoculation de 0,2ml de sang hépariné à des souris (C3H). L'inoculation de 7 échantillons sanguins de bovins n'a pas permis d'isoler de parasite.

Sans exclure, l'existence de *T. evansi* dans la faune sauvage, ou la possibilité d'une réinfestation à partir du Brésil, il semble que le parasite ne se soit pas implanté au Guyana. Dans le cas contraire, il aurait probablement été à l'origine de signes cliniques chez les chevaux très largement utilisés pour la manipulation du bétail. La vigilance reste toutefois de rigueur.

**Zone côtière :** Une étude réalisée par VOKATY *et al.* (1993) sur 161 moutons de la région Mahaica/Berbice, par IFI pour *T. vivax* et *T. evansi* a montré une forte prévalence globale des trypanosomoses (64%), avec 6,8% de positifs pour *T. vivax* seul, 33,5% de positifs aux deux tests et 23,6% de positifs pour *T. evansi* seul. Ces résultats sont le premier indice sérologique de la présence de *T. evansi* dans le pays, il faut toutefois rester réservé sur leur interprétation étant donné que les tests utilisés ne sont pas spécifiques d'espèces, les croisements sérologiques entre *T. vivax* et *T. evansi* pouvant être très importants.

Aucun essai d'isolement des parasites n'ayant été entrepris, il n'est pas possible de conclure à ce stade de l'étude. En particulier, alors que *T. vivax* a été identifié chez les moutons et les chèvres lors d'une enquête parasitologique, *T. evansi* n'a jamais été observé (APPLEWHAITE, 1990).

Les observations récentes, et la littérature scientifique ne font donc pas état de la présence de *T. evansi* au Guyana. La situation reste à définir.

## **SURINAME**

Aucun épisode clinique de Derengadera n'a été signalé au Suriname, seul *T. vivax* a été diagnostiqué, dès 1939, par NIESCHULZ (HOARE, 1972). Toutefois, aux environs de 1980, LIEUW-À-JOE soupçonne un cas clinique chez un chien de chasse, présentant notamment des hémorragies intra-oculaires (communication personnelle).

Les recherches de *T. evansi* en amplification par polymérisation en chaîne de l'ADN (PCR) à l'aide d'oligonucléotides spécifiques, selon la méthode décrite par DIALL (1993) ont été initiées dans le cadre de l'enquête épidémiologique dans les Guyanes. Sur un lot de 41 échantillons de sang, 6 étaient positifs en PCR, indiquant la présence de l'ADN de *T. evansi* dans ces échantillons (LA ROQUE, 1994 ; VAN VLAENDEREN, 1996).

Fin 1995, 3 cas cliniques chez des chiens de chasse d'une même meute ont à nouveau été observés par LIEUW-À-JOE, ROZENBLAD et BANSSE (communication personnelle) en l'espace de 3 semaines. Un frottis sanguin a été réalisé. Les mesures réalisées au CIRAD-EMVT par l'auteur, révèlent des parasites de taille moyenne (27,5  $\mu$ m), de forme variable, possédant un kinétoplaste de petite taille (0,6  $\mu$ m)



en position subterminale (IK = 1,28). Le détail des mensurations et indices observés sur ce parasite est reporté au chapitre quatrième; ces éléments correspondent à ceux généralement décrits pour *T. evansi*.

Pour la confirmation du diagnostic, nous n'avons malheureusement pu obtenir d'autre matériel biologique qu'un frottis de buffy coat. Récoltant une partie du frottis à l'aide d'une lame de bistouri, et le resuspendant en eau distillée, l'identification par PCR avec des oligonucléotides spécifiques de *T. brucei* décrits par MASIGA *et al.* (1992) a été positive.

L'ensemble de ces éléments est en faveur de la présence de *T. evansi* au Suriname, mais seul l'isolement du parasite sur souris permettrait un diagnostic de certitude. Les Services Vétérinaire du Suriname ne possèdent pas l'équipement nécessaire à ces opérations.

Il est surprenant de ne jamais observer de cas cliniques chez les chevaux; tout comme au Guyana et en Guyane Française, la situation de *T. evansi* au Suriname reste à définir, mais les cas cliniques observés chez les chiens (animal sentinelle) et les diagnostics par PCR chez les bovins laissent peu de doute sur la présence du parasite. *T. evansi* est probablement présent dans la faune sauvage, à partir de laquelle les chiens de chasse se contaminent par ingestion, mais sa transmission aux chevaux, n'a pas été observée.

## **VENEZUELA ET BRÉSIL**

Dans le cadre du réseau d'information sur les hémoparasitoses dans les Guyanes, plusieurs tentatives pour entrer en contact avec les Services Vétérinaires de Macapa n'ont pas abouti; l'information sur la présence et l'impact de *T. evansi* dans cette région du Brésil n'a donc pu être mise à jour.

*T. evansi* est enzootique dans toutes les plaines du Venezuela (WELLS, 1984), où il possède un vaste réservoir sauvage et domestique. Dans le cadre du réseau d'information, une souche de *T. evansi* (baptisée « TEVA1 »), isolée à partir d'un cheval, dans l'état d'Apure (mitoyen du plateau des Guyanes), au Venezuela nous a aimablement été adressée pour caractérisation par le Dr E. ESPINOZA, de l'Université Nationale Expérimentale Simon Rodriguez, à Caracas. Des inoculations expérimentales de cette souche ont été réalisées chez des moutons en Guyane Française (chapitre 5, §4.3).

## **8 CONCLUSIONS SUR L'ÉPIDÉMIOLOGIE GÉNÉRALE DES TRYPANOSOMOSES DU BÉTAIL DANS LES GUYANES**

Jusqu'à ce jour, seuls *T. cruzi* et *T. vivax* ont été isolés sur l'ensemble du territoire des Guyanes; *T. evansi* n'étant régulièrement observé qu'au Brésil et au Venezuela.

Aucune enquête approfondie sur la présence de *T. cruzi* chez les animaux domestiques n'est disponible. La plupart des études révèlent la présence du parasite dans la faune sauvage. En réalité, il n'existe pas d'outil de diagnostic suffisamment spécifique et sensible qui permettrait de réaliser une étude épidémiologique de la trypanosomose due à *T. cruzi* chez le bétail. L'utilisation de la PCR dans le diagnostic de cette infection permettra peut-être de réaliser de telles études. L'interférence de *T. cruzi* dans le diagnostic sérologique des trypanosomoses chez les chevaux est soupçonnée en Guyane Française.

La situation épidémiologique de *T. vivax* dans les Guyanes semble relativement homogène, tant sur le plan de la prévalence (20-40%) que de l'épidémiologie générale. Elle sévit dans la plupart des cas sur le mode d'une infection enzootique avec une expression clinique sous forme de foyers épizootiques.

En revanche, l'épidémiologie de *T. evansi* apparaît plus variée.

Au Venezuela, le parasite serait présent dans toutes les plaines, touchant à la fois la faune sauvage et domestique, *T. evansi* étant retrouvé fréquemment chez les capybaras, les bovins et les chevaux.

Au Brésil, son hôte domestique de prédilection serait le buffle.

Au Suriname, la situation serait intermédiaire, puisque le parasite a été observé chez des chiens de chasse, et détecté par PCR chez des bovins, mais jamais soupçonné ou identifié chez les chevaux.

En Guyane Française, le parasite semble se cantonner à la faune sauvage, et n'émerge cliniquement chez les animaux domestiques que dans de rares cas de contaminations de chiens de chasse; le réservoir sauvage n'ayant pas encore été identifié.

Au Guyana, une épizootie a été signalée chez les chevaux dans les années 1970, mais le parasite ne semble pas s'être implanté dans la faune domestique, et n'a pas été signalé depuis ; la contamination aurait eu pour origine des animaux provenant du Brésil (région de Boa Vista).

En l'absence de grandes modifications écologiques ou zootechniques, la situation épidémiologique de *T. cruzi* est probablement stable du fait de sa très ancienne implantation. En revanche les situations épidémiologiques des *Salivaria* ne sont pas figées. Celle de *T. vivax* semblent dépendre étroitement de la circulation des animaux porteurs, et la forme enzoo-épizootique est par essence instable. Enfin, la circulation de *T. evansi* dans la faune sauvage au Suriname et en Guyane Française permettrait sa transmission aux animaux domestiques. La vigilance est donc nécessaire concernant ce parasite, d'autant que les récents épisodes décrits au Brésil montrent son très fort pouvoir pathogène chez le cheval, avec des morbidités et mortalités supérieures à 80% chez des animaux jamais infectés au préalable (SILVA *et al.*, 1995 a-d).

Dans le cadre du réseau d'information, des échantillons de sérums de bovins collectés dans les Guyanes ont été transmis au SVD de la Guyane. Les analyses indiquent que la situation sanitaire des trois pays est très comparable en ce qui concerne la leucose (prévalences de 35,8% au Guyana, 29,7% au Suriname et 33,5% en Guyane Française). Les examens de brucellose et de fièvre aphteuse ont tous été négatifs, notamment dans le Rupununi (J. FAVRE, communication personnelle).

Aucune différence notable n'a donc pu être mise en évidence sur les statuts sanitaires du bétail des trois Guyanes, aucun obstacle n'a pu être identifié qui justifierait le maintien de barrières sanitaires aussi strictes que celles imposées par l'U.E. D'autres maladies des bovins pourraient être explorées par sérologie avec la banque de sérum de l'EMVT qui, fin 1996, regroupe environ 4000 échantillons de Guyane Française, 2500 du Suriname et 1500 du Guyana.

La détection par PCR de *T. evansi* chez des bovins au Suriname doit toutefois être prise en considération, et l'éventuelle introduction de bétail sur pied en Guyane Française devrait être assortie d'une sérologie ELISA-indirecte *T. evansi* négative.

Des dérogations aux interdictions d'importation de bétail à partir du Suriname permettraient la recapitalisation du cheptel de Guyane Française tombé à environ 7000 têtes en 1996. Il est évident que



l'introduction de bétail d'embouche doit être absolument proscrite étant donné l'effondrement économique qu'elle provoquerait dans l'élevage bovins de Guyane Française. Une autorisation d'importation provisoire et conditionnelle devrait être strictement limitée aux reproducteurs, et assortie d'un contrôle sanitaire complet incluant une sérologie trypanosomes, et un traitement stérilisant contre *T. evansi*.

En 1993, les principaux représentants de l'élevage bovin de Guyane Française y étaient favorables. Les éléments résultant des enquêtes épidémiologiques sont maintenant à leur disposition et à celle des autorités sanitaires françaises.

Le schéma de développement de l'élevage en Guyane Française durant les trente dernières années illustre les effets funestes, paradoxaux et cycliques qu'une politique d'apparence du développement de l'élevage a su engendrer mais ne peut aujourd'hui que difficilement masquer. Il est urgent de reconstituer le cheptel bovin en Guyane Française, qui devrait, pour atteindre le même niveau que les pays voisins (environ 1 bovin pour 3 habitants) atteindre 40.000 têtes. Objectif qui semble aujourd'hui bien difficile à atteindre, les obstacles politiques et économiques étant bien supérieurs et insurmontables, en comparaison aux contraintes sanitaires.

\* \* \*



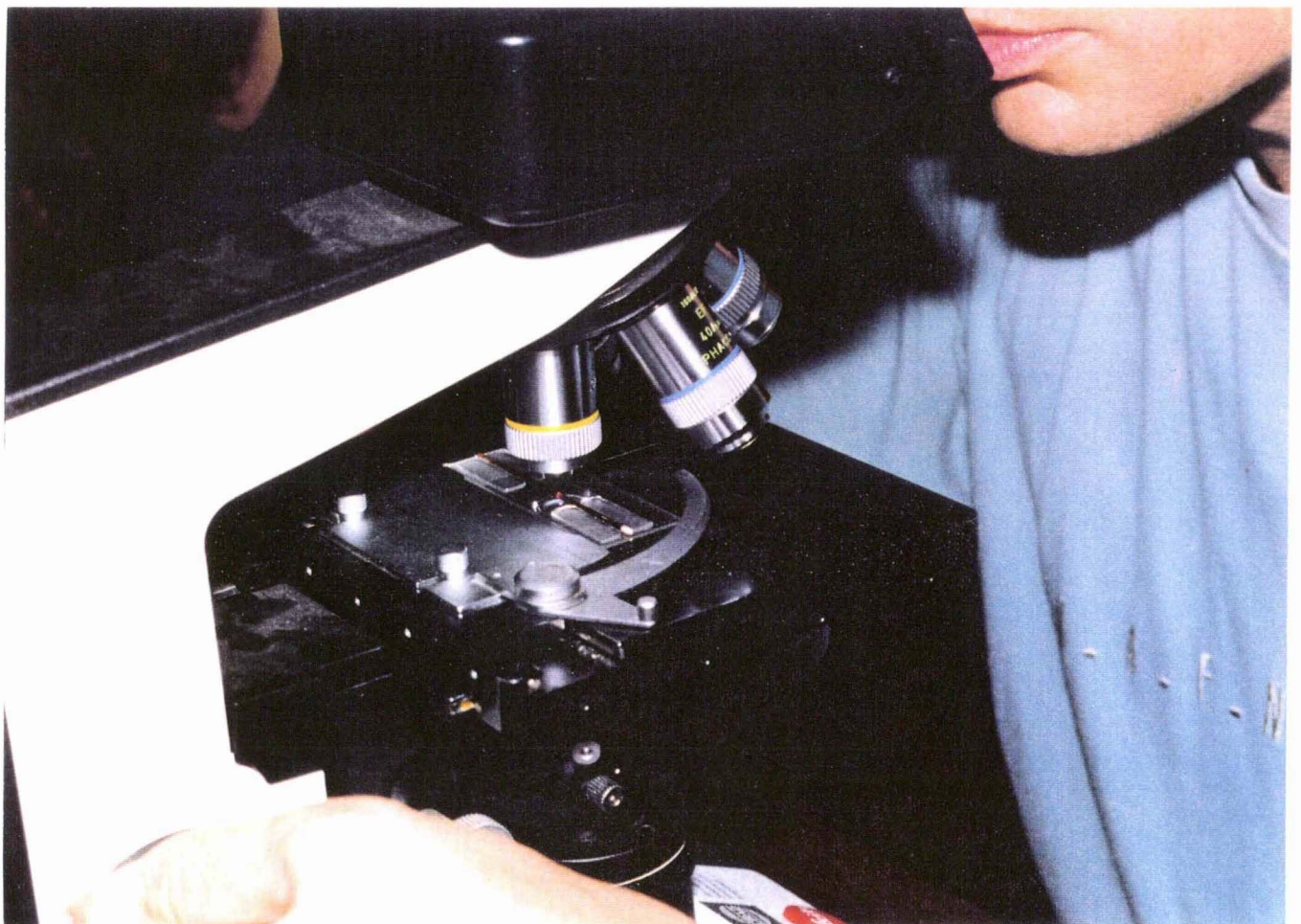






## CHAPITRE TROISIÈME :

# ÉVALUATION ET AMÉLIORATION DES OUTILS DE DIAGNOSTIC



## INTRODUCTION

Le diagnostic clinique des trypanosomoses est rarement possible car les symptômes ne sont pas spécifiques, évoquant l'ensemble des hémoparasitoses, voire d'autres maladies du bétail (cf. Chapitre 1). Le diagnostic de laboratoire des trypanosomoses est donc nécessaire pour confirmer les suspicions cliniques et pour réaliser des enquêtes épidémiologiques. Il peut porter sur un prélèvement de sang, mais également de ganglion lymphatique, de liquide céphalo-rachidien, de calque d'organe, etc., et être réalisé selon les cas, à l'état frais, ou sur du matériel biologique fixé ou congelé.

Le diagnostic parasitologique consiste en la mise en évidence du parasite; les parasitémiées étant très fluctuantes et souvent basses, en particulier dans les infections chroniques (BETANCOURT *et al.*, 1979), il est fréquent que ces techniques ne permettent pas la détection d'infections pourtant actives.

Le diagnostic sérologique par détection des anticorps est adapté aux études épidémiologiques, mais ne permet généralement pas de savoir si l'animal est activement infecté ou si les anticorps sont seulement la cicatrice sérologique d'une infection passée; d'autre part il n'indique pas avec certitude l'espèce en cause.

La détection des antigènes ou de l'ADN du parasite sont des techniques théoriquement idéales, qui permettent un diagnostic sensible et spécifique de l'infection active.

Dans un premier temps, les techniques de diagnostic décrites dans la littérature scientifique sont passées en revue, puis, l'évaluation et/ou l'amélioration de certaines d'entre elles sont effectuées, à partir d'infections expérimentales, de prélèvements réalisés sur du bétail élevé en Guyane Française, ou importé de France métropolitaine.

# 1 TECHNIQUES PARASITOLOGIQUES

## 1.1 REVUE DES TECHNIQUES

Les examens sont le plus généralement réalisés sur des prélèvements sanguins. Chez les bovins, selon les habitudes des praticiens, les possibilités de contention, et le volume souhaité de l'échantillon, les prélèvements peuvent être réalisés à la veine jugulaire, à la veine caudale, ou à l'oreille. Les essais menés par CURASSON (1943) et GREIG *et al.* (1979) montrent que le prélèvement à l'oreille fournit un diagnostic plus sensible qu'à la jugulaire; il est donc recommandé, bien que, pour des raisons pratiques, les autres techniques soient plus souvent appliquées.

### 1.1.1 Examens microscopiques directs

Ils consistent à rechercher les parasites, à l'état frais ou après fixation, soit directement dans le sang, soit après enrichissement. Les principales méthodes et leurs caractéristiques sont exposées ci-après. La sensibilité et la spécificité des diverses techniques sera discutée.

#### 1.1.1.1 Examen direct à l'état frais

L'examen direct de sang frais au microscope à contraste de phase est peu utilisé car sa sensibilité est très faible. Il permet parfois l'identification du parasite (sur les critères de morphologie et de motilité).

#### 1.1.1.2 Frottis sanguin ou de ganglion lymphatique

C'est le diagnostic de certitude. A partir d'une ponction ganglionnaire ou d'un échantillon de sang



collecté sur anticoagulant, l'observation microscopique (X1000) d'un frottis fixé au méthanol et coloré au Giemsa permet d'identifier, sur les critères de morphologie et morphométrie, le sous-genre auquel appartiennent les trypanosomes. Selon le contexte épidémiologique, en examen routinier, à partir du diagnostic de sous-genre, le diagnostic d'espèce peut souvent être déduit. C'est donc un examen relativement spécifique. La sensibilité du test est faible, de l'ordre de  $10^4$ - $10^5$  parasites/ml.

L'examen d'une goutte épaisse (MACLENNAN, 1957) est une variante de celui du frottis, plus sensible, mais ne permettant pas toujours l'identification du parasite. Il est fréquemment utilisé pour le diagnostic des trypanosomoses humaines.

### **1.1.2 Examens microscopiques après concentration**

#### **1.1.1.1 Centrifugation Hématocrite (HCT) (ou test de WOO)**

La technique a été décrite par WOO (1969) ; elle est réalisée par centrifugation différentielle du sang dans un tube à hématocrite (Haematocrit Centrifuge Technique, HCT); elle permet l'exploration d'un volume de sang d'environ 70 $\mu$ l. L'HCT est rapide et économique, de plus elle fournit une évaluation de l'état d'anémie de l'animal. Sa sensibilité serait, selon les espèces, de 500 (*T. brucei*), 1250 (*T. vivax*), à 6525 trypanosomes/ml (*T. congolense*) (PARIS *et al.*, 1982).

La double centrifugation hématocrite est une variante de celle-ci qui consiste en une première centrifugation d'un volume de 1,5ml de sang, puis à réaliser un HCT avec le buffy coat issu de la première centrifugation (KRATZER et ONDIEK, 1989). La sensibilité de la méthode permet de détecter moins de 100 trypanosomes/ml de sang (VERY *et al.*, 1990); malheureusement la récupération du buffy coat est une opération délicate qui engendre de grandes variations de sensibilité du test d'un technicien à l'autre. D'autre part, la technique est plus lourde, pour un faible gain de sensibilité.

#### **1.1.1.2 Méthode de MURRAY (BCM: « Buffy Coat Method »)**

C'est une variante de la méthode de WOO, dans laquelle on coupe le tube capillaire afin d'en extraire le matériel biologique situé au niveau de l'interface globules/plasma. Un examen exhaustif de ce matériel est réalisé à l'état frais entre lame et lamelle au microscope à fond noir (DG, pour « Dark Ground »), on l'appelle BCM/DG, ou simplement DG (MURRAY *et al.*, 1977).

Ce matériel peut également être observé après fixation/coloration (BETANCOURT *et al.*, 1979). Les modifications morphologiques engendrées par la centrifugation à haute vitesse interdisent les études de morphométrie du parasites dans ces conditions, en revanche, l'identification du sous-genre est encore réalisable.

#### **1.1.1.3 Filtration sur colonne de DEAE-cellulose**

Cette technique repose sur les propriétés électriques de la DEAE-cellulose, à un pH choisi, de retenir les cellules sanguines et de laisser passer les trypanosomes (LANHAM et GODFREY, 1970). Malheureusement, si les différences de charges superficielles entre cellules sanguines et trypanosomes sont fortes chez les rongeurs, elles sont très faibles chez les ruminants, ce qui rend la technique beaucoup moins efficace. Dans la pratique, cette méthode est davantage utilisée pour l'isolement de parasites, sur des colonnes de grande capacité, que pour le diagnostic.

En revanche, une technique dérivée, dite « miniature anion exchange centrifugation technique » (mAECT) permet de réaliser des diagnostics avec une sensibilité voisine de celle de l'HCT (LUMDSEN *et al.*, 1981), mais elle reste plus longue et coûteuse que cette dernière.

#### 1.1.1.4 Centrifugation en silicone

La technique a été décrite par NESSIEM (1994), elle consiste à déposer 1ml de sang sur un mélange de silicone d'une densité de 1,075, et de centrifuger à 150g pendant 5 minutes. Les érythrocytes sont retrouvés au fond du tube, et les parasites sont récupérés dans le surnageant pour un examen direct. La sensibilité de la méthode est équivalente à celles des techniques HCT et mAECT.

De même des gradients de Percoll (GRAB et BWAYO, 1982) ou de Ficoll (note de l'auteur) peuvent être utilisés avec succès.

#### 1.1.1.5 QBC: « Quantitative Buffy Coat method »

C'est une autre variante de l'HCT, dans laquelle le tube capillaire est tapissé d'acridine orange et d'oxalate de potassium pour assurer la fluorescence des parasites; le tube est de plus équipé d'un « flotteur » qui se trouve au niveau du buffy coat en fin de centrifugation, et qui plaque les parasites contre les parois du tube. Ces modifications facilitent la détection des parasites au microscope.

Une revue, non publiée, a été faite par FRÉZIL, en 1995, qui soulignait la disparité des résultats obtenus avec la technique du QBC; certains auteurs faisant état de la détection possible d'un trypanosome par 110 $\mu$ l (LEVINE *et al.*, 1989), d'autres ne la trouvant pas plus sensible que l'HCT (McNAMARA *et al.*, 1995; BAILEY et SMITH 1992). Quatre ans plus tard, les mêmes auteurs (BAILEY et SMITH, 1996) indiquent que le QBC est plus sensible que la technique de WOO et le mAECT pour détecter *T. b. gambiense*. TRUC *et al.* (1994) trouvent que le QBC et la mAEC ont la même sensibilité. La sensibilité du QBC est décidément controversée... Son intérêt pour le diagnostic de la maladie du sommeil chez l'homme reste à l'étude.

Pour la médecine vétérinaire, le coût des tubes est prohibitif, 25FF/tube selon FREZIL (1995) et 10FF selon BAILEY et SMITH (1996), contre 0,50FF pour les tubes capillaires normaux. L'utilisation du QBC n'a donc pas été envisagée dans notre étude.

#### 1.1.1.6 Lyse cellulaire

La lyse hypotonique des globules rouge (TRONCY *et al.*, 1981) ou à l'aide de détergents (BOCQUENTIN *et al.*, 1989) sont plus délicates à mettre en oeuvre, et plus longues que l'HCT, pour un très faible gain de sensibilité. Elles ne sont pas couramment utilisées.

#### 1.1.3 Culture des parasites

**In vitro** : La seule technique fiable de diagnostic de *T. theileri* est la culture *in vitro*, qui peut être réalisée sur divers milieux : NNN, gélose au sang, milieu de NÖLLER, etc. (HOARE, 1972). Le diagnostic de *T. theileri* est rarement recherché. En pratique, la culture étant une technique longue et laborieuse, elle n'est utilisée que pour l'isolement de souches parasitaires.

*T. cruzi* peut être aisément cultivé, sur les mêmes milieux, notamment pour la production des antigènes à des fins diagnostiques, mais les conditions de sécurité doivent être scrupuleusement respectées



car le parasite est infectant par voie conjonctivale (Anonyme, 1991 a). Le kit for *in vitro* isolation (KIVI) est un milieu d'isolement qui n'a jamais été testé pour *T. cruzi* (LE RAY, communication personnelle); son évaluation est en cours pour les trypanosomoses humaines et animales en Afrique (BAILEY et SMITH, 1992 ; TRUC *et al.*, 1994 ; McNAMARA *et al.*, 1995); les premiers résultats semblent indiquer que le KIVI pourrait être utilisé pour l'isolement de souches, mais ne semble pas destiné au diagnostic puisque sa sensibilité a été inférieure aux techniques de visualisation directe (HCT et QBC).

Bien que des cultures de *T. brucei* (HIRUMI et HIRUMI, 1989), *T. evansi* (ZWEYGARTH et KAMINSKY, 1990) et *T. vivax* (ISOON et ISOON, 1974; GUMM, 1991 ; HIRUMI et HIRUMI, 1991) soient possibles, et présentent parfois une sensibilité supérieure à celle de l'examen direct (pour *T. brucei*), les conditions particulières, la lenteur et le coût de ces techniques les rendent inaccessibles à la plupart des laboratoires.

Pour *T. evansi*, BALTZ *et al.* (1985) ont mis au point des milieux de culture, mais ils fournissent des résultats variables selon les souches. Sur ces mêmes milieux *T. equiperdum* produit des formes sanguines du parasite (GARDINER et MAHMOUD, 1990).

En médecine vétérinaire la culture des trypanosomes *in vitro* est très peu utilisée pour le diagnostic.

**In vivo :** La technique la plus couramment utilisée est l'inoculation intra-péritonéale de matériel biologique infecté à des souris. Les souches de souris les plus utilisées sont NMRI, Balb/C, CF1 ou C3H.

C'est une méthode de choix pour un diagnostic sensible des infections par *T. evansi* car la plupart des souches parasitaires sont très virulentes chez la souris, et se développent en 3 à 5 jours. Il est toutefois recommandé de poursuivre les examens pendant 40 à 60 jours après l'infection. L'inoculation aux souris peut être utilisée pour le diagnostic de *T. brucei* avec une sensibilité de l'ordre de 88% (MONZON *et al.*, 1990), et celui de *T. congolense*, avec une sensibilité de l'ordre de 43% (ROBSON et ASHKAR, 1972, d'après LUCKINS, 1993). Il est également possible de cultiver *T. cruzi* de cette manière, mais de grandes précautions doivent être prises dans la manipulation des animaux infectés à cause des risques de contamination humaine.

Des premiers essais d'infection du lapin (ROUBAUD et PROVOST, 1939) et du rat (DESOWITZ et WATSON, 1951) par *T. vivax* sont restés infructueux. Après de nombreuses tentatives, l'adaptation aux souris de certaines souches de *T. vivax* a été obtenue, notamment au Nigeria (LEEFLANG *et al.*, 1976) et en Uganda (MOLOO, 1982). Deux stocks d'Afrique de l'Est ont été adaptés au rat et à la souris, provoquant des infections parfois létales. Ces souches adaptées aux rongeurs (GATHUO *et al.*, 1987) ont en particulier permis de développer l'étude des antigènes variants de *T. vivax* (GARDINER *et al.*, 1987; VOS, 1989), jusqu'alors simplement supposés similaires à ceux de *T. congolense* et *T. brucei*.

Signalons enfin que le diagnostic de la dourine (*T. equiperdum*) est parfois réalisé par injection intra-scrotale chez le lapin ; le parasite peut être observé dans les sérosités de l'oedème testiculaire 5 jours après l'inoculation (TRONCY *et al.*, 1981). Chez le rat, les premières inoculations engendrent des parasitémies faibles, mais après une période d'adaptation, le parasite se multiplie bien (GARDINER et MAHMOUD, 1990). Étant donné la difficulté des premiers passages, la méthode n'est pas adaptée au diagnostic.

*T. evansi* mis à part, d'une manière générale ces techniques sont peu employées pour le diagnostic de routine, du fait de leur longueur et de leur coût. En revanche elles sont très utiles pour l'isolement de souches ou la production de matériel biologique parasitaire.

#### 1.1.4 Discussion sur la sensibilité et la spécificité des différentes méthodes

Nous retenons les méthodes rapides, les plus sensibles, reproductibles et de faible coût: frottis coloré, HCT, BCM, et inoculation aux souris.

**Spécificité :** La technique d'élection pour l'identification des trypanosomes est l'examen microscopique de frottis sanguins ou lymphatiques colorés. L'identification n'est toutefois possible que si la parasitémie est élevée; elle est réalisée sur la base des critères de morphologie et de morphométrie décrits par HOARE (1972).

Lorsque l'examen direct à l'état frais est possible, la motilité du parasite (*T. vivax*) et la réfringence de la membrane ondulante (*T. evansi*) peuvent orienter la diagnose.

L'HCT et, *a fortiori*, la BCM, permettent parfois d'identifier le parasite (CAMUS, 1983): *T. theileri* sur la base de sa grande taille et de son extrémité postérieure effilée; *T. evansi* qui a des mouvements rapides sur place, *T. vivax* qui traverse le champ du microscope (BCM) ou « nage » dans le plasma (HCT). Si ces observations sont valables dans un contexte de diagnostic de routine, elles ne permettent pas toujours l'identification avec certitude.

L'inoculation aux souris permet la culture de *T. evansi*, mais également celle de *T. cruzi*. Dans le contexte sud-américain où tout animal est potentiellement infecté par *T. cruzi*, elle présente donc le danger de manipuler inconsidérément des souches pathogènes pour l'homme. Le parasite est ensuite identifié sur frottis coloré.

**Sensibilité :** Pour le diagnostic des infections à *T. evansi* l'inoculation aux souris est la technique la plus sensible. Dans une étude réalisée sur 165 échantillons de chevaux de la province de Formosa (Argentine), MONZON *et al.* (1990) détectent 88,2% d'infections par inoculation aux souris contre 71,1% avec l'HCT, et 63,4% avec le BCM/DG; les autres techniques parasitologiques utilisées étant encore moins sensibles. Quoiqu'il en soit, en diagnostic de routine, la technique de l'HCT reste celle qui présente le meilleur rapport coût/sensibilité.

Pour *T. vivax*, si la supériorité des méthodes de concentration sur les examens directs est unanime (TORO, *et al.*, 1981; BETANCOURT *et al.*, 1979; PARIS *et al.* 1982; CAMUS, 1983; KALU *et al.* 1986; VÉRY *et al.* 1990), il n'en va pas de même de la sensibilité relative des diverses techniques de concentration, et de la sensibilité théorique qui leur est attribuée.

LEEFLANG *et al.* (1978) sont les seuls auteurs à trouver l'examen de la goutte épaisse plus sensible que l'HCT. De leur côté, MURRAY *et al.* (1977 et 1979), et PARIS *et al.* (1982) indiquent que le DG est plus sensible que l'HCT, permettant respectivement la détection de parasitémies de 500 et 1250 *T. vivax* / ml. CAMUS (1983) constate que les techniques se valent. En revanche, KALU *et al.* (1986), BETANCOURT *et al.* (1979), et VAN VLAENDEREN (1996) trouvent que l'HCT est plus sensible que la BCM.

Devant la disparité des informations de la littérature scientifique, des expériences ont été menées afin de déterminer la sensibilité relative de l'HCT et de la BCM (§1.2), et, afin de chiffrer le seuil de positivité de l'HCT, et déterminer la sensibilité relative du test en fonction de la parasitémie (§1.3). Cette étude fournira en outre des indices permettant d'évaluer la parasitémie à partir du nombre de parasites observés dans le tube à hématocrite, ce qui permettra de mesurer précisément les parasitémies dans les suivis d'infections expérimentales.



## 1.2 EVALUATION DE LA SENSIBILITE RELATIVE DE L'HCT ET DE LA BCM

L'évaluation a été faite chez 4 bovins expérimentalement infectés par *T. vivax* de Guyane (IL4007) ; elle est relatée en détail dans la **publication N°7** (annexe 2.6). Les méthode et résultats de l'expérience sont les suivants : 160 prélèvements sanguins récoltés sur tube héparinés ont été effectués pendant les 50 premiers jours d'infection (40 échantillons par animal), sur lesquels ont été réalisées l'HCT et la BCM. L'HCT a fourni 68% de réponses positives contre 59% avec la BCM. Conformément aux observations de KALU *et al.* (1986), BETANCOURT *et al.* (1979), et VAN VLAENDEREN (1996), les résultats de cette expérience confirment que l'HCT est plus sensible que la BCM pour la détection de *T. vivax*.

## 1.3 ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ DE L'HCT POUR LA DETECTION DE *T. VIVAX*

Les travaux d'évaluation sont détaillés dans la **publication N°3** (annexe 2.1) intitulée: « Evaluation de la sensibilité du test de WOO pour la détection de *Trypanosoma vivax* » (DESQUESNES et TRESSE, 1996 a), les principaux éléments sont résumés ci-dessous.

Après estimation de la parasitémie dans du sang de mouton infecté, par dilution du sang infecté dans du sang non infecté, 22 préparations de parasitémie allant de 1 à 1767 *T. vivax*/ml sont constituées. Six tubes à hématocrite de 70µl sont préparés selon la méthode de WOO et lus en aveugle par 2 techniciens.

L'évaluation de la sensibilité du test de WOO, calculée selon les indications de CUISANCE (1995), a fourni en terme de parasitémie, un seuil moyen de positivité ) de 200 +/-110 *T. vivax* /ml; (lorsqu'un seul parasite peut être observé ; et en en termes de probabilités, la sensibilité du test est de 100% quand la parasitémie est supérieure à 700 parasites/ml, environ 80% entre 700 et 265/ml et 46% entre 265 et 60/ml; en-deçà de 60 parasites/ml la sensibilité du test est quasiment nulle.

Pour les mesures de la parasitémie, si elle est supérieure à 2000 trypanosomes/ml le comptage sera effectué entre lame et lamelle, et, dans les conditions décrites, la parasitémie sera égale au nombre moyen de trypanosomes par champ microscopique, affecté d'un facteur de :  $17 \cdot 10^3$  au grossissement X200 ;  $270 \cdot 10^3$  au grossissement X400 et  $1,7 \cdot 10^6$  au grossissement X1000.

Si la parasitémie est inférieure à 2000 trypanosomes/ml, l'estimation sera réalisée à partir du nombre de trypanosomes observés dans un tube capillaire comme indiqué au **tableau XV**.

## 1.4 CONCLUSION SUR LES TECHNIQUES PARASITOLOGIQUES

Outre la sensibilité intrinsèque des techniques, il faut souligner que la sensibilité de l'examen parasitologique dépend principalement de la phase de l'infection, aiguë ou chronique, et qu'elle est très faible dans le dernier cas. En Amérique Latine, pour le diagnostic individuel des trypanosomoses du bétail par les techniques parasitologiques, on peut donc recommander l'utilisation de l'HCT, complétée, lorsqu'elle est positive, par celle du frottis de buffy coat. Si *T. evansi* est également soupçonné ou recherché, l'inoculation aux souris peut avantageusement compléter les précédents examens. Dans tous les cas, et, autant que possible, si le niveau de la parasitémie le permet, l'identification des parasites sera réalisée sur frottis. Les techniques parasitologiques trouvent essentiellement leur application dans les foyers épizootiques, et s'avèrent très peu sensibles en dehors de ces foyers ; dans ce cas elle seront complétées ou remplacées par les techniques sérologiques.

**Tableau XV: Estimation de la parasitémie selon le nombre de *T. vivax* observés dans un tube à hématocrite**

Nombre de <i>T. vivax</i> observés dans un tube à hématocrite	Parasitémie correspondante (en parasites/ml)
1	200 +/- 110
2	330 +/- 200
3	590 +/- 300
4	630 +/- 230
5 à 9	1200 +/- 460
10 à 20	1600 +/- 400



## 2 DIAGNOSTICS SÉROLOGIQUES PAR RECHERCHE D'ANTICORPS

Les techniques de détection des anticorps viennent en complément des techniques parasitologiques, elles ne permettent pas d'établir si l'infection est active ou passée, mais elles sont un outil épidémiologique de première importance puisqu'elles permettent d'estimer la prévalence des infections, et, dans une certaine mesure, leur évolution.

Les diverses techniques décrites dans la littérature scientifique sont passées en revue (§1), puis des techniques de détection des immunoglobulines M (IgM) sont évaluées (§2), et, étant donné son adaptation aux enquêtes épidémiologiques, l'évaluation et l'optimisation de la méthode de détection des IgG par ELISA-indirecte *T. vivax* ont été approfondies (§3-5).

Les communautés antigéniques entre les différentes espèces de trypanosomes sont connues et/ou soupçonnées bien qu'elles n'aient jamais été étudiées de manière exhaustive; certaines d'entre elles seront analysées en vue notamment de leur application diagnostique (§6).

### 2.1 REVUE DES TECHNIQUES DE DÉTECTION DES ANTICORPS

La plupart des tests de détection des anticorps dirigés contre les trypanosomes pathogènes du bétail ont été élaborés pour la détection des principales trypanosomoses animales africaines: *T. congolense*, *T. brucei* et *T. vivax*. D'autres techniques ont été mises au point pour *T. evansi*, et enfin pour *T. equiperdum*. Les techniques de fluorescence, de fixation du complément, d'ELISA, d'agglutination directe et indirecte, ont été utilisées.

#### 2.1.1 Tests d'agglutination

Il repose sur la détection des IgM, et consiste à mettre en présence, dans un tube capillaire, le sérum suspect et une suspension de parasites lysés (par sonication), puis à observer les micro-agglutinations, à l'oeil nu ou au microscope. Le diagnostic est réalisable sur le terrain, mais l'antigène est très instable. Utilisé pour les infections à *T. brucei*, il a donné de mauvais résultats avec *T. congolense* et *T. vivax* (TRONCY *et al.*, 1981).

Le CATT test<sup>ND</sup> est une variante de cette méthode, utilisant des parasites entiers colorés (lyophilisés pour une bonne conservation), l'observation de l'agglutination à l'oeil nu est aisée mais parfois subjective. Initialement destiné au diagnostic des infections humaines le Testryp CATT<sup>ND</sup> mis au point avec *T. brucei gambiense* a notamment été appliqué à la détection des infections par *T. congolense* chez le porc, et *T. evansi* chez les bovins, les ovins, les buffles et le porc. Une légère adaptation du test est nécessaire chez certaines espèces, mais dans l'ensemble la sensibilité est comparable à celles du test de fixation du complément et du test d'hémagglutination indirecte (BAJYANA SONGA *et al.*, 1987). Appliqué au diagnostic des infections à *T. equiperdum*, le Testryp CATT<sup>ND</sup> n'est positif que sur les animaux présentant des symptômes cliniques (GARDINER et MAHMOUD, 1990).

Un CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup> a été développé à partir d'un clone de *T. evansi* d'Indonésie présentant le type d'antigène variable (VAT) baptisé RoTat 1.2, commun à de nombreuses souches de *T. evansi* (isoVAT) (MAGNUS *et al.*, 1982). La sensibilité est supérieure à celle du Testryp CATT<sup>ND</sup>, mais l'ubiquité du variant antigénique utilisé n'est pas encore connue avec certitude (BAJYANA SONGA et HAMERS, 1988); sa

spécificité est mal définie, des réactions croisées avec d'autres trypanosomes sont probables ; enfin l'adjonction d'anti-IgG dans les échantillons évite le masquage antigénique par cette classe d'immunoglobuline mais ces réactifs ne sont pas fournis dans le kit commercial.

La cinétique des IgM de cet isoVAT n'est pas suffisamment connue pour affirmer que la détection par le CATT test puisse être continue au cours de l'infection quelle que soit la souche en cause. Le CATT test doit être utilisé en complément des autres techniques, en particulier dans les zones d'enzootie à *T. evansi*; il présente l'avantage de pouvoir être réalisé aisément sur le terrain. Sensibilité et spécificité devront toutefois être précisées.

### **2.1.2 Hémagglutination indirecte (HI)**

La méthode décrite par GILL (1964) pour *T. evansi* a été adaptée à *T. vivax* par CLARKSON *et al.* (1971 b). Des hématies tannées sont sensibilisées avec des antigènes solubles du parasite, puis mises en présence des sérums suspects à des dilutions pouvant aller de 1/20 à 1/40960, dans les microplaques. L'agglutination est ensuite observée à l'oeil nu, et le résultat indexé à la dilution maximale agglutinante. Pratique pour des diagnostics individuels, ce test pose le problème de la conservation des hématies tannées (3-4 jours), de l'existence fréquente d'agglutinations non spécifiques (faux positifs), et de la lourdeur de la technique pour des études de grande envergure (CLARKSON *et al.*, 1971 b). En outre, la séroconversion en condition d'infection expérimentale n'a lieu qu'après 28 jours, ce qui est relativement tardif, révélant une sensibilité faible de la méthode. La spécificité a été peu étudiée, mais les croisements entre espèces sont assez prononcés, à tel point que BENITEZ *et al.* (1980 et 1983, cités par GARDINER et MAHMOUD 1990) pensaient détecter des infections par *T. vivax* à l'aide d'antigènes de *T. evansi*.

D'après CLARKSON *et al.* (1971 b), le test n'est pas fiable pour le diagnostic de *T. vivax*.

### **2.1.3 Réaction de fixation du complément (RFC)**

Initialement mise au point pour le diagnostic de la dourine et du surra (TRONCY *et al.*, 1981) la technique de fixation du complément a été adaptée aux autres trypanosomes animaux, notamment *T. congolense*, *T. brucei* et *T. vivax* (STAACK et LOHDING, 1979).

L'antigène parasitaire est mis en présence du sérum décomplémenté, puis le complément est ajouté; si la reconnaissance a lieu (animal possédant des anticorps) le complément se fixe sur le complexe anticorps-antigène, dans le cas contraire il reste disponible. La réaction est révélée par la mise en présence d'hématies de moutons couvertes d'hémolysines. Si le complément est disponible il y a lyse des globules rouges; le résultat du test est négatif.

La technique est assez lourde, elle n'est pas spécifique d'espèce, et donne même, parfois, des réponses interspécifiques (ou hétérologues) plus fortes que les réponses intraspécifiques (ou homologues), notamment en cas d'infections successives avec les diverses espèces parasitaires rencontrées en Afrique (STAACK et LOHDING, 1979). La RFC ne permet pas de distinguer les infections dues à *T. equiperdum* et *T. evansi* (GARDINER et MAHMOUD, 1990). La séroconversion est assez rapide pour *T. vivax* mais plus lente dans les autres espèces, enfin, la persistance de la réaction positive après traitement curatif est longue, une diminution de 50% de la réponse n'étant obtenue qu'après 2 mois.

De plus, il existe chez certaines espèces comme le cheval des facteurs d'inhibition du complément qui peuvent interférer dans la RFC (WASSAL *et al.*, 1991). La RFC est toutefois recommandée pour le



diagnostic de la dourine (STAAK, cité par TOURATIER, 1994) ; elle est utilisée en priorité par le Service Vétérinaire Fédéral des USA, notamment pour le diagnostic de *T. equiperdum* dans les contrôles d'importation de chevaux du Mexique, et c'est la technique retenue par l'U.E. (conseillée par l'OIE).

#### 2.1.4 Test d'immunofluorescence indirecte (IFI)

Des tests d'immunofluorescence indirecte ont été utilisés chez l'homme puis chez l'animal pour le diagnostic des trypanosomoses (TRONCY *et al.*, 1981). L'adaptation de la méthode au diagnostic de *T. vivax* a été faite par DALEY (1971). Les parasites peuvent être produits directement sur un animal splénectomisé, à partir duquel, à l'acmé parasitaire, on réalise des frottis fixés à l'acétone (+/- éthanol) et conservés à -20°C (ALONSO *et al.*, 1992). Mieux, les parasites peuvent être isolés et conservés à 4°C par fixation acétone glacé 80% / formol 0,25% en soluté physiologique (KATENDE *et al.*, 1987). Le sérum suspect est incubé, et, après lavage, on ajoute un anticorps conjugué à la fluorescéine, dirigé contre les immunoglobulines de l'espèce testée. En lumière ultra-violette, la coloration vert-jaune est appréciée. Le seuil de positivité du test est fixé en relation avec la dilution du sérum jusqu'à extinction de la fluorescence.

La méthode est assez sensible, mais sa spécificité est faible, les titres obtenus avec les antigènes homologues n'étant pas toujours plus élevés qu'avec les antigènes hétérologues (TRONCY *et al.*, 1981). Des animaux infectés par *T. vivax* ou *T. congolense* donnent jusqu'à 85% de résultats positifs en IFI *T. brucei* (ASHKAR et OCHILO, 1972, d'après LUCKINS, 1993). L'interprétation de la fluorescence est, de plus, assez subjective dans les cas douteux (PLATT et ADAMS, 1976; LUCKINS, 1977; LUCKINS et MEHLITZ, 1978), et la reproductibilité des diagnostics mise en cause par certains auteurs (FERENC *et al.*, 1990).

La séroconversion est parfois tardive, 60 et 90 jours chez la brebis et la chèvre pour les infections à *T. evansi* (JACQUIET *et al.*, 1993). Des croisements entre *T. evansi* et *T. cruzi* sont signalés chez le cheval (MONZON et COLMAN, 1988); un cheval infecté par *T. cruzi* peut même présenter des titres plus élevés avec les antigènes de *T. evansi* qu'avec ceux de *T. cruzi* (MONZON, 1987). De même, des croisements sont signalés entre *T. evansi* et *T. vivax* (FERENC *et al.*, 1990).

Bien que la technique soit assez lourde, et demande un équipement important, l'IFI est un outil qui a été très largement utilisé, notamment dans les enquêtes épidémiologiques, et n'a que récemment été supplanté par les techniques ELISA-indirectes.

#### 2.1.5 Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

En 1971, ENGVAL et PERLMANN décrivent la méthode ELISA. En 20 ans elle a été adaptée au dépistage de très nombreuses infections (VOLLER *et al.*, 1976), dont les trypanosomoses humaines dues à *T. cruzi* (VOLLER *et al.*, 1975), à *T. b. rhodesiense* et *T. b. gambiense*, ainsi qu'aux trypanosomoses animales dues à *T. evansi* (LUCKINS *et al.*, 1978), *T. equiperdum* (CAPOREALE *et al.*, 1981), *T. vivax* (LUCKINS, 1977; VOS et GARDINER, 1990; FERENC *et al.*, 1990), et *T. congolense* (LUCKINS, 1977; BOCQUENTIN et DUVALLET, 1990).

Le principe de l'ELISA-indirecte est commun à l'ensemble des méthodes décrites ; il repose sur la sensibilisation de microplaques ELISA en polystyrène par des antigènes solubles extraits du parasite. La technique de préparation des antigènes est simple : après isolement des trypanosomes sanguins sur colonne de DEAE (LANHAM et GODFREY, 1970), les parasites sont lysés par sonication, congélation et décongélation, et la fraction insoluble est éliminée par centrifugation à haute vitesse (>45.000 t./min.). Le

sumageant est utilisé pour sensibiliser les plaques, à une concentration protéique de 5 à 30 µg/ml. Les immunoglobulines spécifiques, éventuellement présentes dans les échantillons suspects se fixent sur les antigènes et sont révélées par des antiglobulines d'espèce marquées avec une enzyme, le plus souvent la peroxydase (Horse raddish peroxidase, HRPO) avec le complexe substrat / révélateur (eau oxygénée / ABTS pour la peroxydase). La lecture des plaques peut être faite à l'oeil nu, ou à l'aide d'un spectrophotomètre; la longueur d'onde de lecture dépendant de celle du chromogène utilisé (405 à 414 nm pour l'ABTS).

Une variante consiste à utiliser une réaction chimioluminescente (oxydation du luminol) révélée par photographie (STEUBER *et al.*, 1987).

La plupart des comparaisons qui ont été faites entre les méthodes de diagnostic précédemment décrites (IFI, HI, RFC) et la méthode ELISA ont été en faveur de cette dernière (WASSALL *et al.*, 1991; FERENC *et al.*, 1990; BOCQUENTIN *et al.*, 1990), considérée comme très sensible, et possédant une bonne spécificité de genre, et même de sous-genres pathogènes chez les animaux (FERENC *et al.*, 1990). Les examens ont une meilleure reproductibilité que l'IFI (FERENC *et al.*, 1990), et la méthode est adaptée aux études épidémiologiques de grande envergure, avec un coût très faible (LUCKINS *et al.*, 1978).

La standardisation des antigènes reste un problème majeur puisque, dans la plupart des cas, ils sont produits *in vivo*, des variations sont inhérentes au mode de production. A ce jour, chaque laboratoire est tenu de préparer ses propres antigènes, ce qui rend la technique assez variable. De même le choix du seuil de positivité (ou « cut off line » pour les anglo-saxons) est parfois arbitraire, et doit être défini et validé selon des standards internationaux et/ou régionaux. Les recommandations d'un groupe d'experts ont été publiées dans cet objectif (WRIGHT *et al.*, 1993).

La spécificité d'espèce est assez faible, les croisements antigéniques entre *T. vivax*, *T. brucei*, *T. evansi*, et *T. congolense* ont été décrits (GRAY et LUCKINS, 1977 ; IJAGBONE *et al.*, 1989 ; FERENC *et al.*, 1990 ; ROSSI *et al.* 1993 et 1995). Les croisements entre *T. equiperdum* et d'autres trypanosomes pouvant être rencontrés chez le cheval sont évoqués mais n'ont pas encore été étudiés en ELISA (WASSALL *et al.*, 1991). D'après GARDINER et MAHMOUD (1990), le test ELISA n'est pas spécifique d'espèce.

Des essais de fractionnement des antigènes de *T. brucei* permettant un diagnostic spécifique ont été réalisés (IJAGBONE *et al.*, 1989). Une fraction antigénique non protéique a été isolée, ne croisant pas avec les sérums d'animaux immunisés contre *T. congolense* et *T. evansi*. Les essais de croisement avec *T. vivax* n'ont pas été effectués dans cette expérience. Cette voie de recherche permettra peut-être de mettre au point des tests de détection des anticorps spécifiques d'espèces, toutefois, la quantité d'antigène brut nécessaire est très importante, et la haute technicité de la préparation permettra difficilement une généralisation de cette méthode.

La production d'antigènes recombinants spécifiques résoudrait à la fois les problèmes de spécificité, de production, et de standardisation des antigènes.

#### **2.1.6 Dot-enzyme linked Immuno Sorbent Assay (dot-ELISA)**

Des systèmes dot-ELISA sur nitrocellulose ont été développés pour la détection des anticorps dirigés contre des hémoparasites, notamment anaplasmes et babésies (MONTENEGRO-JAMES *et al.*, 1992) et, plus récemment pour *T. evansi* (SINGLA *et al.*, 1996). Ces systèmes présentent généralement l'avantage de pouvoir être appliqués individuellement, de nécessiter très peu d'équipement et d'être souvent plus rapides



que l'ELISA; ils sont donc davantage adaptés au diagnostic individuel que collectif. Ceci mis à part, ils présentent des caractéristiques de sensibilité et de spécificité voisines de celles de l'ELISA-indirecte. Ici encore la production d'antigènes recombinants permettrait la standardisation et la production de réactifs pour le diagnostic.

### 2.1.7 Conclusions partielles sur les techniques de détection des anticorps

Parmi ces techniques nous retiendrons, pour le diagnostic individuel: l'IFI, l'ELISA-indirecte (en modules amovibles) et le CATT test, et, pour les enquêtes épidémiologiques: la technique ELISA-indirecte. Il reste deux écueils à l'utilisation de ces tests, d'une part la spécificité d'espèce, de l'autre, la valeur prédictive d'infection active lors d'un résultat positif.

**Spécificité :** Il est établi que les trypanosomes pathogènes du bétail rencontrés en Afrique croisent antigéniquement; quel que soit l'antigène et la technique utilisée, l'interprétation d'un résultat positif ne peut être que « trypanosome pathogène ».

En Amérique Latine, on peut principalement rencontrer chez le bétail: *T. theileri*, *T. evansi*, *T. vivax*, *T. equiperdum* et *T. cruzi*. Mis à part *T. theileri* pour lequel il a été montré que les animaux porteurs ne donnent pas de réponse positive avec les ELISA de détection des trypanosomes pathogènes du bétail (PLATT et ADAMS 1976; LUCKINS 1977; FERENC *et al.*, 1990; DESQUESNES et GARDINER, 1993), la spécificité des tests entre les autres espèces mentionnées ci-avant est peu ou mal connue.

L'étude des communautés antigéniques de *T. vivax* et *T. evansi* n'a que très récemment été entreprise par western-blotting et par ELISA (ROSSI *et al.*, 1993 et 1995; voir également §6); elle montre un croisement très important entre ces espèces.

*T. cruzi* peut être une source d'erreur dans le diagnostic des infections par *T. evansi*. Chez le cheval, en Argentine, sur 557 échantillons traités en IFI, MONZON et COLMAN (1988) ont obtenu 21,2 % de réponses positives sur antigènes de *T. evansi*, et 9,3 % sur antigènes de *T. cruzi*, avec 4,3 % des échantillons uniquement positifs sur antigènes de *T. cruzi*. Dans leur contexte, ils concluent à une faible mais substantielle interférence de *T. cruzi* dans le diagnostic de *T. evansi* (<5%).

Chez la chèvre, les études réalisées au Mexique, en technique IFI sur antigènes de *T. cruzi*, ont montré une séroprévalence des anticorps de 6,5% à 38,5%, et la possibilité pour cette espèce d'héberger le parasite sans signe clinique apparent (ALCAINO *et al.*, 1995).

Ces observations mises à part, aucune donnée ne permet d'estimer l'importance de l'interférence de ce parasite dans les diagnostics sérologiques des trypanosomoses des chevaux, des bovins, ovins et caprins; les investigations dans ce domaine sont donc nécessaires, et ne pourront être réalisées que lorsqu'une technique de détection des anticorps spécifique d'espèce sera disponible.

*T. cruzi* peut également interférer dans les études épidémiologiques de *T. evansi* chez le chien. Ainsi, l'étude de GREINER *et al.* (1994), au Brésil, ne prend pas en compte cette possible interférence.

Les travaux de l'auteur pour le diagnostic de la maladie de Chagas chez l'homme montrent l'existence d'une communauté antigénique prononcée entre *T. evansi* et *T. cruzi* (DESQUESNES et TRESSE, 1997).

Notons que *T. cruzi* pourrait également interférer dans le diagnostic sérologique de *T. equiperdum*; ainsi, en l'absence totale de symptômes de la maladie et d'isolement du parasite, des échantillons positifs en ELISA *T. equiperdum* ont été découverts sur des mules et des chevaux au Mexique (E. RUBI,

communication personnelle), où *T. evansi* et *T. equiperdum* n'ont jamais été signalés. D'autres techniques de diagnostic sérologique par recherche d'anticorps ont été employées, sans permettre de confirmer ou infirmer le diagnostic. On ignore à ce jour s'il s'agit d'une interférence entre divers trypanosomes potentiellement présents chez le cheval (*T. cruzi*, *T. evansi*, voire *T. vivax* ?), ou s'il s'agit d'authentiques cas de trypanosomose asymptomatique dues à *T. equiperdum*. Inversement, en Amérique Latine, chez le cheval, *T. equiperdum* doit être pris en considération car il peut interférer dans le diagnostic sérologique lors d'enquêtes épidémiologiques sur *T. evansi* (TOURATIER, 1993).

Dans l'interprétation des résultats de détection d'anticorps, il est capital de conserver à l'esprit qu'une partie des immunoglobulines détectées n'est pas spécifique de l'espèce parasitaire à laquelle appartiennent les antigènes utilisés. Étant donné qu'antigénicité et immunogénicité sont des propriétés partiellement indépendantes, dans certains cas, un test hétérologue peut donner une réponse positive plus forte qu'un test homologue.

**Sensibilité et valeur prédictive de l'infection active :** Si la détection des anticorps ne permet pas d'affirmer que l'animal est porteur du parasite, certaines données épidémiologiques peuvent toutefois être déduites des résultats. Ainsi, la cinétique des anticorps dirigés contre *T. congolense* a été étudiée par BOCQUENTIN *et al.* (1990), qui ont montré qu'en ELISA, les échantillons redeviennent négatifs 4 mois après un traitement stérilisant (contre 6 mois en IFI). Dans ces cas, il est possible de déduire qu'une infection active a eu lieu, si un tel traitement a été réalisé plus de quatre mois avant le diagnostic. Dans l'étude de FERENC *et al.* (1990), sur *T. vivax*, les sérums des animaux redevenaient négatifs à partir du 30ème jour suivant un traitement stérilisant.

Le temps de séroconversion négative sera étudié chez les ovins expérimentalement infectés (§5) et chez les bovins naturellement infectés par *T. vivax* en Guyane Française (§4). En outre, une méthode d'interprétation des résultats d'ELISA, fondée sur les scores de densité optiques obtenus dans les troupeaux sera proposée, en particulier pour établir la valeur prédictive de l'infection (§4).

La sensibilité des tests de détection des anticorps est bonne; celle de la technique ELISA étant la meilleure, à l'unanimité des auteurs. Les délais de séroconversion positive (après l'infection) ou négative (après élimination spontanée du parasite ou traitement stérilisant) imposent l'existence de résultats faussement négatifs ou positifs, en particulier lors d'infection ou de traitement récents, mais la connaissance du contexte clinique et zootechnique permet d'interpréter les résultats et d'adapter les prélèvements et les techniques de diagnostic à la situation. En particulier, en cas de suspicion d'infection récente on doit adjoindre le diagnostic parasitologique (HCT), et en cas de traitement récent, une deuxième sérologie anticorps peut être réalisée à un mois d'intervalle pour savoir si l'infection est encore active.

## 2.2 ÉVALUATION DES TESTS DE DETECTION DES IMMUNOGLOBULINES M

Un kit commercial (CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup>) et une technique de détection des immunoglobulines M (IgM) par ELISA-indirecte ont été évalués, dans le cadre d'une enquête épidémiologique et/ou en conditions expérimentales.

### 2.2.1 CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup>

Le CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup> a été gracieusement fourni par le Professeur VAN MEIRVENNE (Institut de Médecine Tropicale d'Anvers), pour son évaluation et son utilisation lors de l'enquête séro-



épidémiologique dans les Guyanes. Dans ce cadre, la reproductibilité du test a été éprouvée, et sa spécificité a été évaluée à l'aide de sérums issus d'animaux expérimentalement infectés par *T. vivax*.

#### 2.2.1.1 Reproductibilité

**Matériel et méthode :** 638 sérums de bovins testés au Suriname (341) et au Guyana (297) ont été testés à nouveau au laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane, dans le cadre de son activité de Laboratoire de Référence (LR). Afin de s'assurer qu'aucune confusion dans l'étiquetage des sérums lors de leur aliquotage en double exemplaire dans chaque pays d'origine ne serait à l'origine de variations, un lot de 50 échantillons (25 du Suriname et 25 du Guyana) ayant présenté globalement autant de résultats positifs que négatifs lors d'un premier examen au LR a de nouveau été testé, en aveugle, deux fois à un jour d'intervalle.

**Résultats :** Les 638 échantillons ont fourni dans les laboratoires des Services Vétérinaires et au LR, des séroprévalences globales très comparables: Suriname 18,5% contre 18,8% au LR, et Guyana 44,8% contre 49,2% au LR. En revanche, les résultats individuels étaient discordants pour un tiers des échantillons de chaque pays. Dans le lot de 50 échantillons testés 2 fois consécutives, un quart (6/25) à un tiers (8/25) étaient tantôt positifs tantôt négatifs; la reproductibilité du test n'a été que de 70%. Aucune explication de ces variations n'a pu être formulée, sinon que la lecture des tests paraît subjective dans de nombreux cas.

#### 2.2.1.2 Spécificité

150 sérums prélevés pendant les 60 premiers jours d'infection expérimentale de trois moutons avec une souche de *T. vivax* de Guyane Française (TVFG1) ont été testés, révélant 23% de résultats faussement positifs. Les résultats positifs ont été irrégulièrement obtenus au cours des infections. Le croisement du test entre *T. vivax* et *T. evansi* est donc avéré, mais irrégulier.

### 2.2.2 Détection des immunoglobulines M par ELISA-indirecte *T. vivax*

**Matériel et méthode :** Pour évaluer l'intérêt diagnostique de la recherche des IgM, des réactions ELISA-indirectes *T. vivax* ont été comparées, en réalisant la réaction d'une part à l'aide d'un conjugué anti-IgG (méthode de FERENC *et al.*, 1990), et de l'autre, avec un conjugué anti-IgM (affinity purified antibody to sheep IgM rabbit, KPL<sup>®</sup>) utilisé au 1/1000 dans le même protocole que pour les recherches d'IgG. Des échantillons sanguins sont prélevés quotidiennement sur un mouton expérimentalement infecté par une souche de *T. vivax* du Venezuela (TVVG1) pendant les 123 premiers jours de l'infection, et le plasma testés dans les deux systèmes de détection. Le dénombrement des parasites dans le sang est également réalisé comme indiqué au §1.3.

**Résultats-discussion :** La **figure 20** présente la parasitémie et les pourcentages de positivité relatifs (PPR) obtenus en recherche d'IgG et d'IgM (la définition du « PPR » est donnée au paragraphe suivant, il est proportionnel à la densité optique fournie par l'échantillon à l'issue de la réaction ELISA). Dans l'ensemble du document, pour toutes les graphiques représentant des parasitémies, une échelle logarithmique est utilisée. On observe que les PPR en IgG croissent sensiblement environ 2 semaines après l'infection, et restent ensuite élevés d'une manière stable, alors que les PPR en IgM croissent plus précocement, mais sont toujours hautement variables et en conséquence inutilisables pour les études de séroprévalence.

Ces résultats sont différents de ceux de VOS (1989) qui obtenait des taux d'IgM relativement stables pendant plus d'une soixantaine de jours après l'infection de chèvres avec un clone d'une souche africaine de *T. vivax* (IL 2969); toutefois dans son expérience, les animaux ne sont prélevés que tous les 6 jours environ, les fluctuations des IgM ont pu passer inaperçues. Une autre hypothèse est que dans notre expérience, la compétition entre IgM et IgG ait été à la faveur de ces dernières, masquant ainsi lors de certains prélèvements la présence des IgM. Toutefois, la concordance fréquente entre la chute de la parasitémie et celle du taux des IgM (voir la **figure 20**) est plutôt en faveur de la consommation des IgM sous forme d'immunocomplexes, et donc d'une réelle fluctuation de leur disponibilité dans le sérum. Quoiqu'il en soit, la fluctuation du taux d'IgM pendant la phase aparasitémique (J89-J110) ne semble trouver d'explication que dans la compétition entre les diverses immunoglobulines du sérum pour se fixer sur les antigènes qui revêtent la plaque ELISA. Les deux mécanismes semblent donc participer aux fluctuations observées.

En outre, ces fluctuations de la présence ou/et de la disponibilité des IgM sont probablement à l'origine des croisements sérologiques irréguliers précédemment obtenus avec les CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup> pour la détection des infections à *T. vivax* chez le mouton.

### 2.2.3 Conclusions

Devant la faible reproductibilité, et la faible spécificité du CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup>, son usage a été abandonné pour les enquêtes et/ou le diagnostic dans les Guyanes. Il semble que le test soit plus robuste lorsqu'il est utilisé dans une espèce et/ou une région dans lesquelles ne sont attendues que des infections monospécifiques due à *T. evansi*, comme c'est le cas au Viêt-Nam (LUONG TO THU *et al.*, 1992).

De même, la recherche d'IgM par ELISA-indirecte n'a pas été retenue du fait de la très grande fluctuation des résultats lors des examens quotidiens.

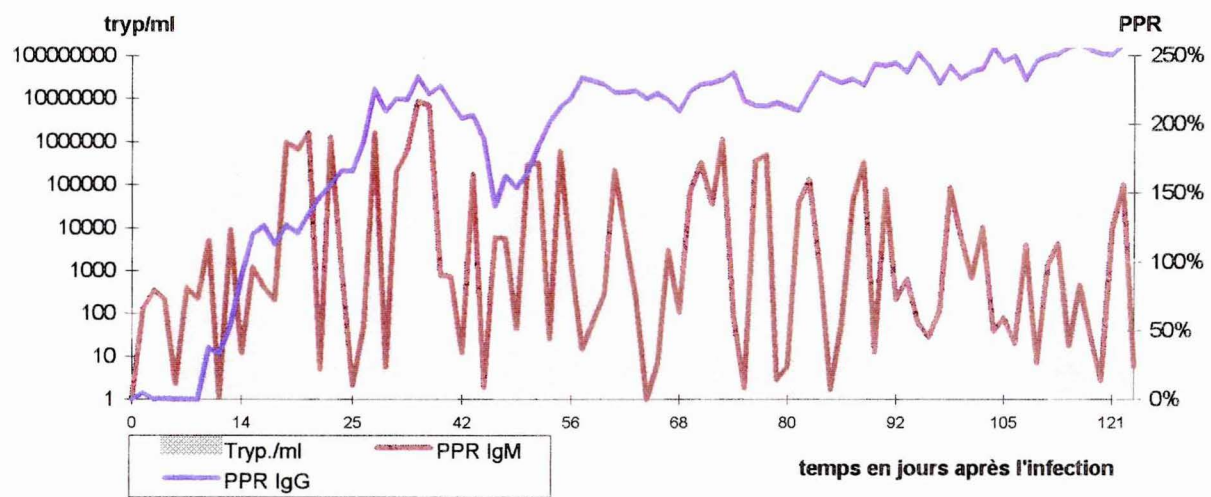
## 2.3 PROPOSITIONS POUR LA STANDARDISATION ET L'INTERPRETATION DES TESTS ELISA-INDIRECTE

Les techniques ELISA utilisées pour le diagnostic des maladies infectieuses ont fait l'objet de nombreuses études de standardisation visant une meilleure reproductibilité des tests, l'expression des résultats, le choix du seuil de positivité (SP) et des échantillons de référence primaires. Il apparaît que la standardisation internationale des réactifs et des protocoles est nécessaire pour permettre les contrôles de qualité et la comparaison des résultats entre laboratoires (WRIGHT *et al.*, 1993), mais que l'interprétation des résultats peut se heurter à des différences importantes selon le secteur géographique étudié puisque les caractéristiques des populations hôte et parasites sont variables d'un secteur géographique à l'autre, ceci en particulier dans le cas des trypanosomes. A ce stade, la standardisation internationale doit laisser place à une standardisation régionale.

Partant des travaux du comité d'experts (WRIGHT *et al.*, 1993), qui prennent en considération les préoccupations de l'OIE, la FAO, l'OMS et l'AIEA<sup>16</sup>, et des recommandations de BOCQUENTIN et DUVALLET (1990), il est proposé un mode d'expression des résultats qui permet d'éliminer les variations entre plaques et d'indexer les résultats sur la réponse moyenne de populations de référence régionales

<sup>16</sup> Agence Internationale pour l'Energie Atomique





**Commentaire :** le taux d'immunoglobulines G croît presque régulièrement au cours de l'infection, alors que le taux d'immunoglobulines M est très variable ; la recherche des IgM n'est donc pas adaptée aux études de prévalences.

**Figure 20 :** Résultats des ELISA-indirectes *T. vivax* IgG et IgM au cours d'une infection par *T. vivax*

infectée et non infectée. L'ELISA-indirecte *T. vivax* (IgG) chez les bovins de Guyane Française sert d'exemple pour cette étude, mais les propositions sont valables pour l'ensemble des réactions ELISA.

Ces travaux sont détaillés dans la **publication N°4 (annexe 2.2)** intitulée « Propositions pour la standardisation et l'interprétation des ELISA-indirectes (indirect-enzyme linked immunosorbent assays) » (DESQUESNES, 1997), dont nous ne faisons figurer ci-après que les éléments déterminants.

### **2.3.1 Standardisation internationale de la réaction**

Aucun réactif international n'est disponible pour la réalisation de l'ELISA-indirecte *T. vivax*, la standardisation internationale portera donc essentiellement sur le protocole, dans l'attente que de tels réactifs soient identifiés. Pour la culture des trypanosomes, nous avons utilisé un clone de *T. vivax* d'origine africaine (IL3568), adapté aux rongeurs, cultivé sur rats irradiés. Les animaux sont anesthésiés et saignés à l'acmé parasitaire (parasitémie  $>10^8$ ). Le protocole d'isolement des parasites est celui de LANHAM et GODFREY (1970), en tampon salé/glucosé (PSG) sur colonne de DEAE 52. Le protocole de préparation des antigènes est celui décrit par FERENC *et al.* (1990), par sonication, congélation et centrifugation (protocole fondé sur celui, non publié, de Joseph KATENDE). Le protocole ELISA a été optimisé avec des sérums de référence, afin d'obtenir un rapport échantillons positifs / échantillons négatifs le plus élevé possible, et de manière reproductible, en suivant les indications de BOCQUENTIN et DUVALLET (1990). Le protocole détaillé est indiqué en **annexe 2.3**. Les sérums de référence primaires sont choisis de manière arbitraire parmi des sérums référencés, un sérum négatif donnant une réponse faible, et un sérum positif donnant une réponse forte. Le rapport des densités optiques (DO) fournis par ces deux échantillons ne doit pas s'éloigner de plus de 1 écart type du rapport moyen obtenu précédemment sur 30 plaques ELISA (contrôle de qualité externe).

### **2.3.2 Standardisation régionale : matériel et méthodes**

**Distribution des réponses des populations de référence :** Les réponses moyennes d'animaux infectés et non infectés sont établies dans la population étudiée. L'HCT et l'ELISA-indirecte sont utilisées pour identifier des élevages sains et infectés. 300 sérums provenant d'animaux élevés dans des troupeaux non infectés, et 300 sérums d'animaux trouvés infectés sont analysés; dans un premier temps les résultats sont exprimés en DO. La représentation graphique de la fréquence des deux populations est établie sous forme d'histogrammes.

**Choix des témoins (échantillons de référence secondaires ou régionaux) :** Le témoin négatif est choisi pour sa réponse égale ( $\pm 5\%$ ) à la valeur moyenne fournie par les 300 sérums d'animaux non infectés (DOMN), et le témoin positif est choisi pour sa réponse égale ( $\pm 5\%$ ) à la valeur moyenne fournie par les 300 sérums d'animaux infectés (DOMP).

**Contrôle de qualité interne :** Les échantillons de référence secondaires (régionaux) sont disposés sur chaque plaque ELISA. Leur réponse moyenne sur une trentaine de plaques est enregistrée, et les fluctuations du rapport  $R = \text{DOMP} / \text{DOMN}$  sont étudiées (moyenne et écart type). Par la suite, si la valeur du rapport d'une plaque s'écarte de plus 1 écart type de la moyenne générale, la plaque est rejetée.

**Expression des résultats :** Dans le système préconisé par WRIGHT *et al.* (1993), les résultats ne sont pas exprimés en DO mais en pourcentage de positivité (PP) par rapport à un échantillon fortement positif. Les PP fournis par un échantillon variant avec l'intensité de la réaction chromogénique, et donc, avec



la qualité individuelle des plaques, les effets de la température et de l'activité des réactifs, etc., le résultat ainsi exprimé est variable d'une plaque et d'une manipulation à l'autre.

Pour limiter les variations dues au déroulement de la réaction chromogénique, et pour indexer les résultats sur des échantillons de référence locaux (échantillons de référence secondaires) il a été choisi d'exprimer les résultats en « PPR » ou pourcentage de positivité relatif à la fois à des témoins positifs et négatifs (échantillons de référence secondaires), de la manière suivante:

$$\text{PPR échantillon} = \frac{(\text{DO échantillon}) - (\text{DO témoins négatifs})}{(\text{DO témoins positifs}) - (\text{DO témoins négatifs})}$$

Dans ce système, des PPR peuvent être négatifs ou supérieurs à 100%.

Les représentations graphiques des deux populations sont faites à l'aide de l'équation de la courbe de Gauss (avec les moyennes et écarts types observés dans les populations de référence exprimés en PPR) :

$$y = \left( \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} \right) \cdot e^{-\left( \frac{(x - \mu)^2}{2\sigma^2} \right)}$$

**Choix du seuil de positivité (SP) :** Le SP peut être défini soit à partir des équations de distribution des deux populations, soit directement sur le graphe, par exemple à la croisée des deux courbes.

Partant des équations de fréquences cumulées, le choix du SP peut être fait selon les exigences de l'utilisateur, avec priorité à la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive (VPP) ou négative (VPN) ou enfin de manière à obtenir autant de faux positifs que de faux négatifs, ou encore le minimum de réponses erronées (le détail des modes de calculs est présenté dans la publication n°4).

**Adaptation du SP à la prévalence réelle :** Lorsque la prévalence des infections dans la population étudiée a pu être estimée, les équations de distribution de fréquence (et leur représentation graphique) peuvent être corrigées en affectant le facteur de prévalence (P) à la population infectée, et le facteur de prévalence (1-P) à la population non infectée. Ces modifications amènent à redéfinir le SP et calculer les nouveaux paramètres du test dans la population étudiée.

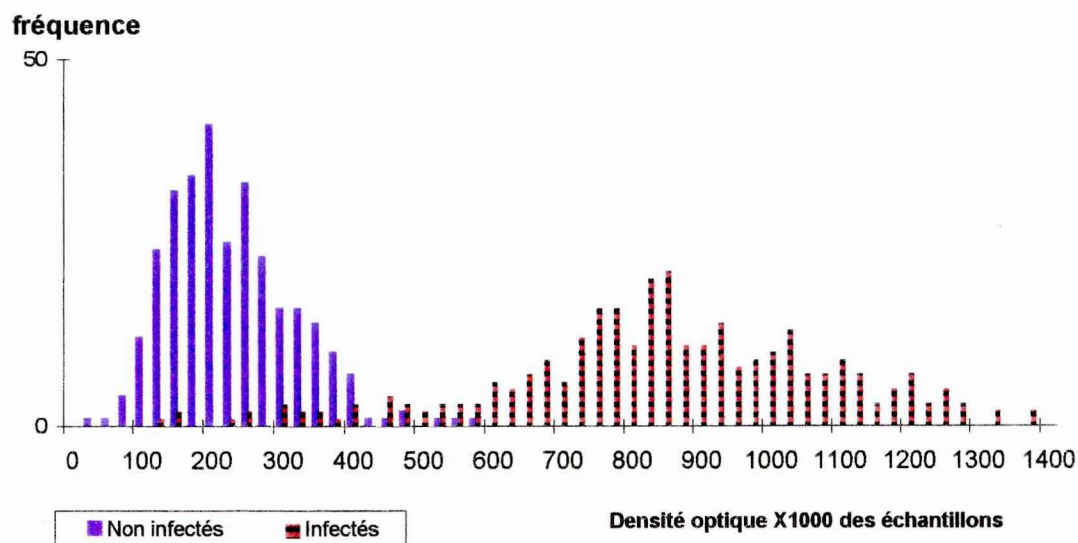
### 2.3.3 Standardisation régionale : résultats

**Distribution des réponses des populations de référence :** Dans le cas de l'ELISA-indirecte *T. vivax*, chez les bovins de Guyane, les résultats obtenus dans les deux populations sont représentés à la **figure 21 a** (avec  $\mu_n = 229$ ,  $\sigma_n = 89$ ,  $\mu_p = 845$ , et  $\sigma_p = 234$ ).

**Choix des témoins (échantillons de référence secondaires ou régionaux) :** La réponse moyenne des animaux non infectés est la DO 234, celle des animaux infectés est la DO 845. Des échantillons de référence secondaires sont retenus lorsque leur réponse ne s'éloigne pas de plus de 5% de ces valeurs, aliquotés et stockés à -80°C.

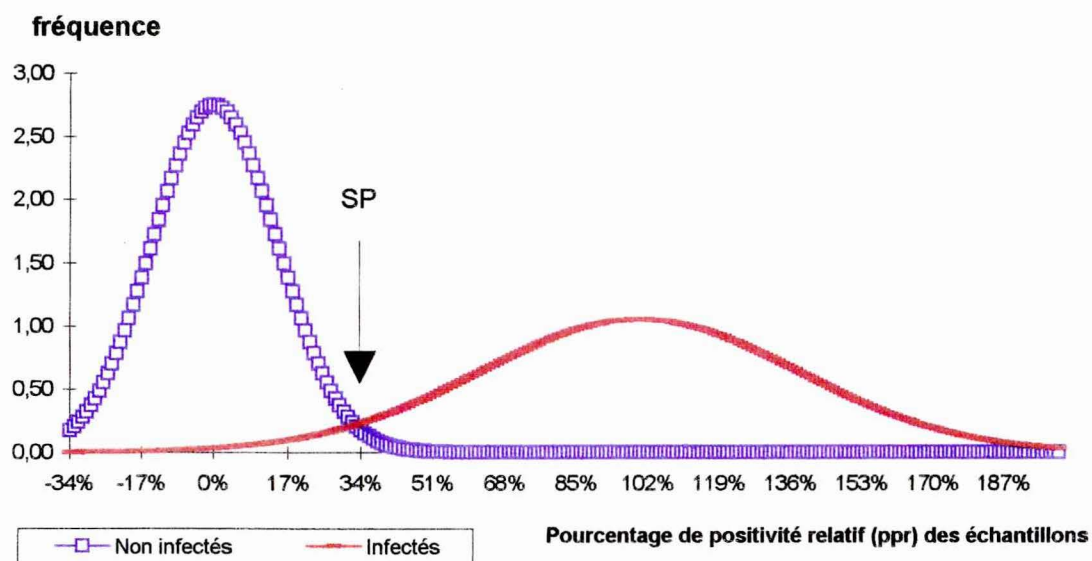
**Contrôle de qualité interne :** Sur 37 plaques testées le rapport témoins positifs / témoins négatifs (R) a été de 3,71 et l'écart type de 0,29. Le rapport des plaques ultérieurement testées devra donc toujours être compris entre 3,42 et 4.

**Expression des résultats en PPR :** Les résultats obtenus avec les deux populations de 300 bovins infectés et non infectés par *T. vivax*, sont exprimés en PPR et illustrés à la **figure 21 b** (avec  $\mu_n = 0\%$ ,  $\sigma_n = 14,4\%$ ,  $\mu_p = 100\%$ , et  $\sigma_p = 37,9\%$ ).



**Légende :** moyenne des non infectés : DO = 234 ; moyenne des infectés : DO = 845.

**Figure 21 a : Distributions des DO des deux populations de 300 individus infectés et non infectés :**



**Légende :** moyenne des non infectés : PPR = 0% ; moyenne des infectés : PPR = 100%.

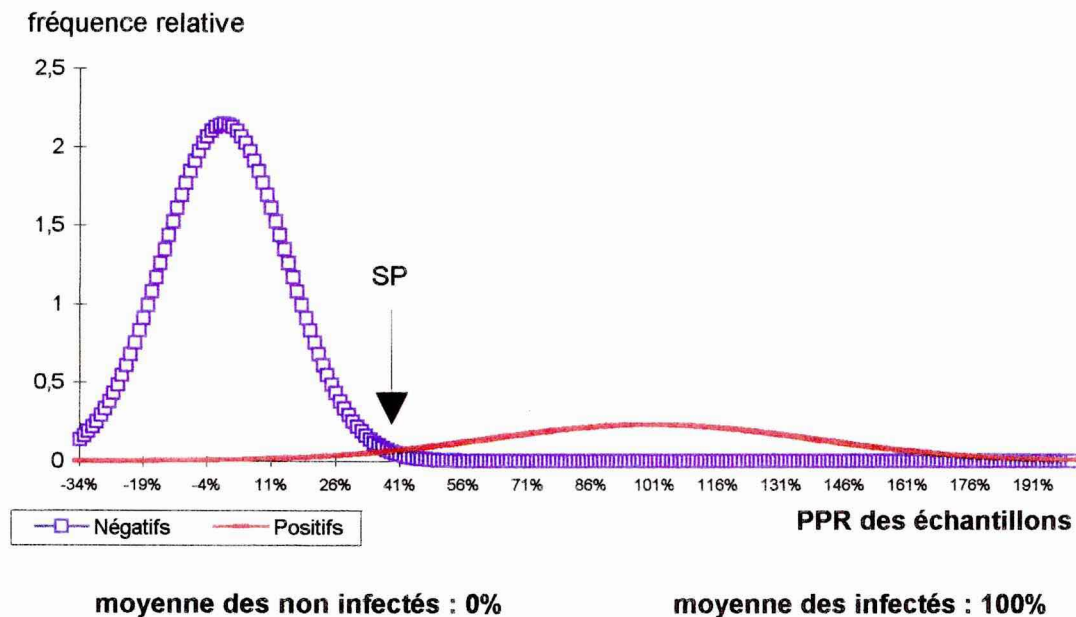
**Figure 21 b : Distributions des PPR des deux populations de 300 individus infectés et non infectés :**

#### Commentaires :

- le changement d'échelle opéré par l'expression des résultats en « PPR » fournit le PPR 0% pour la moyenne des individus non infectés et le PPR 100% pour la moyenne des individus infectés ;
- ce nouveau mode d'expression permet de lire directement sur le graphe la sensibilité (intégrale de la partie de la Gaussienne de distribution des animaux infectés se situant à droite du seuil de positivité (SP)) et la spécificité du test (intégrale de la partie de la gaussienne de distribution des animaux non infectés se situant à gauche du SP) ;
- si la ligne de coupe du test est choisie à la croisée des deux gaussienne de distribution, le PPR 33% sera retenu comme SP.

**Figure 21 : Distributions des densités optiques X1000 (DO) ou des pourcentages de positivité relatifs (PPR) de bovins infectés et non infectés par *T. vivax* en Guyane Française**





**Commentaires :**

- il est apparent que la sensibilité du test diminue quand la prévalence des infections est basse ;
- pour conserver de bonnes valeurs prédictives, lorsque la prévalence des infections est inférieure à 50%, le seuil de positivité (SP) doit être déplacé vers la droite, comme dans l'exemple ci-dessus; si la prévalence était supérieure à 50%, le SP devrait être déplacé vers la gauche ;
- si la ligne de coupe du test est choisie à la croisée des deux gaussiennes de distribution, le PPR 40% sera retenu comme SP.

**Figure 21 c : Distribution théorique des PPR des populations de bovins infectés et non infectés de Guyane Française avec une prévalence des infections de 22%**

**Figure 21 : Distributions des pourcentages de positivité relatifs (PPR) de bovins infectés et non infectés par *T. vivax* en Guyane Française (suite)**

**Choix du seuil de positivité (SP) :** Dans l'exemple choisi, la séroprévalence théorique est de 50% ; le SP défini graphiquement serait le PPR 33% (cf. **figure 21 b**), avec une sensibilité de 96%, et une spécificité de 98%. D'autres exigences peuvent être définies par l'utilisateur et aboutir à des SP différents (cf. publication N°4).

**Adaptation du SP à la prévalence réelle :** Avec la séroprévalence observée de 22% en Guyane Française (DESQUESNES et GARDINER, 1993), la représentation de la distribution théorique des PPR des bovins de Guyane Française est illustrée à la **figure 21 c**, où 22% des animaux constituent la population infectée (en rouge) et 78% des animaux constituent la population non infectée (en bleu). On apprécie ainsi la puissance relative du test en fonction de la prévalence des infections. Il est apparent qu'un nouveau SP doit être défini.

Si l'on fixe le nouveau SP à 40%, les valeurs prédictives sont VPP = 96% et VPN = 98,8%. Les taux de résultats faussement positifs et négatifs sont égaux, et voisins de 0,9%. D'autres méthodes pour le choix du SP sont exposées dans la publication N°4. Cette représentation graphique illustre le fait, bien connu des épidémiologistes, que la spécificité d'un test est de plus en plus faible quand la prévalence des infections diminue, ce qui est particulièrement évident en fin de campagnes d'éradication. Il faudrait dans ces cas déplacer le SP des tests, comme dans notre exemple, vers la réponse des animaux infectés, pour conserver une bonne spécificité ; il est évident que ce choix se ferait au détriment de la sensibilité, qui est également très importante dans les campagnes d'éradication, d'où les difficultés rencontrées par les acteurs en fin de campagnes.

## **2.4 APPLICATION DE L'ELISA-INDIRECTE *T. vivax* CHEZ LES BOVINS**

### **2.4.1 Evolution de la réponse quantitative dans un foyer de trypanosomose bovine**

#### **2.4.1.1 Matériel et méthode**

Un lot de 23 bovins importés de France métropolitaine a été mis en contact avec des bovins locaux porteurs de *T. vivax*. Un foyer de trypanosomose s'est déclaré dans cet élevage, avec une incidence de 70% en quelques semaines. La totalité du troupeau a été traité au chlorure d'isométylpyridinium le 25 juin 1996, et l'ensemble des animaux prélevés régulièrement pendant plus de 5 mois afin de suivre l'évolution des PPR après un traitement présumé stérilisant. Un lot d'animaux non infectés du même élevage sert de témoin. Tous les échantillons sont traités par HCT et en ELISA-indirecte *T. vivax* (IgG); les résultats des ELISA sont exprimés en PPR et le SP du test est fixé à 50% de PPR afin d'obtenir une valeur prédictive positive très élevée. On étudie les paramètres suivants : **Séroprévalence** ; **PPRm** ou PPR moyen du lot ; **PPRmP** ou PPR moyen des animaux positifs ; et **PPRmN** ou PPR moyen des animaux négatifs.

#### **2.4.1.2 Résultats-discussion**

**Lot témoin :** la séroprévalence est nulle et le PPRm des animaux est toujours inférieur à 20%.

**Lot infecté :** Les caractéristiques des sérologies ELISA-indirecte *T. vivax* des 23 animaux importés sont exposées à la **figure 22**.

La **séroprévalence** est de 70% lors du prélèvement contemporain du traitement ; elle reste élevée jusqu'à environ 3 mois après le traitement puis chute rapidement. Les réponses faussement positives obtenues pendant les trois mois qui suivent le traitement stérilisant correspondent bien à la cinétique de disparition des Immunoglobulines G (IgG).



Le **PPRm** a atteint 83% puis diminue jusqu'à 26% 3,5 mois après le traitement; le lot est considéré comme globalement négatif 3 mois après le traitement ( $\text{PPRm} < 50\%$ ).

Le **PPRmP** est aux environs de 100% pendant le portage, avec des scores individuels de 200% signant une infection active, puis il chute à 70% 3,5 mois après le traitement.

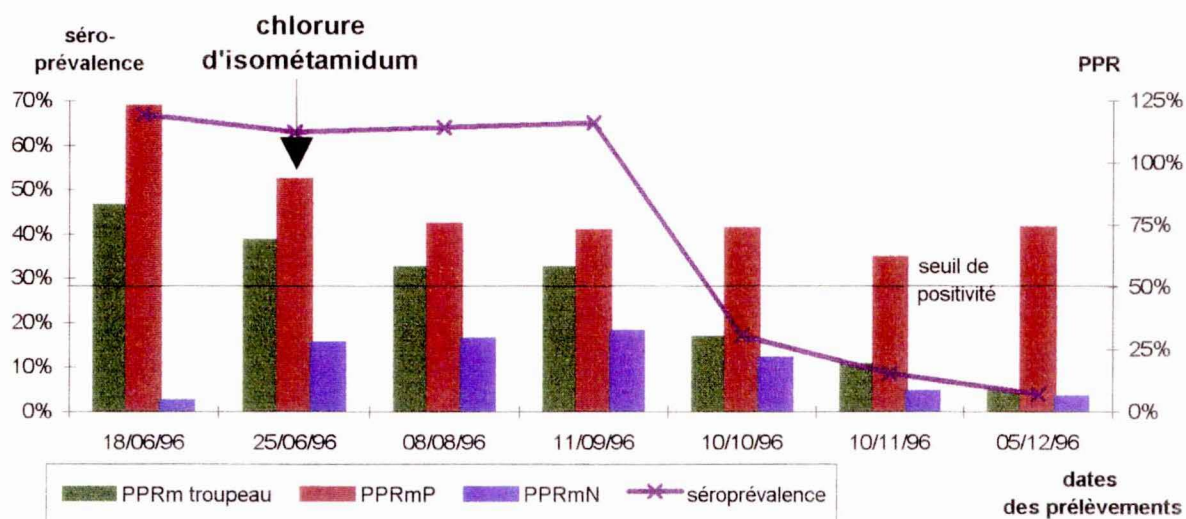
Le **PPRmN** est de 9,5% au début du suivi puis il augmente jusqu'à 30% un à trois mois après le traitement, ces chiffres indiquent la chute lente des taux d'anticorps chez les animaux traités.

A la **figure 22** on apprécie la chute de la séroprévalence, du **PPRm** et du **PPRmP** qui accompagnent la croissance du **PPRmN**. Ce dernier augmente (passage graduel du **PPR** des animaux sous le SP) puis diminue avec l'élimination des IgG spécifiques. Trois animaux donnent encore des réponses positives 3,5 mois après le traitement, et un seul animal est encore positif 4,5 mois après le traitement ; cet animal est par ailleurs le seul retrouvé porteur du parasite le 10/11/96, ce qui montre que le test sérologique est particulièrement fiable. L'origine du portage par cet animal peut avoir deux hypothèses: soit il aura accidentellement échappé au traitement le 18/06/96, soit il aurait été recontaminé à partir des moutons ou chèvres du troupeau. En règle générale, lorsque l'objectif est la stérilisation du troupeau il est recommandable de réaliser deux traitements à 3 mois d'intervalle pour éviter de telles résurgences accidentelles. En toute apparence, l'ensemble du troupeau étant négatif 4 mois après le traitement, la résistance du parasite au chlorure d'isométydium n'est pas envisagée, on suppose qu'un animal a pu recevoir une dose insuffisante ou échapper accidentellement au traitement. La durée de séroconversion négative, après stérilisation, a donc été de **3 à 4 mois**, ce qui se rapproche des résultats obtenus par BOCQUENTIN et DUVALLET (1990) avec l'ELISA-indirecte *T. congolense*. En revanche, la séroconversion était beaucoup plus rapide dans les travaux de FERENC *et al.* (1990) sur *T. vivax*. Aucune hypothèse n'a pu être émise quant à l'origine de cette différence.

#### **2.4.2 Interprétation générale des résultats**

Par définition, suite au choix des échantillons de référence des bovins infectés et non infectés par *T. vivax* en Guyane Française, le **PPR** d'un animal non infecté est voisin de 0%, et celui d'un animal infecté voisin de 100%. Dans le contexte épidémiologique de la Guyane Française, afin que le test présente une valeur prédictive très élevée (99,9%), le SP du test a été fixé à 50% de **PPR**; dans ces conditions, la sensibilité du test est de 90% et sa spécificité voisine de 100%. Avec ce SP, les données établies lors de la standardisation du test associées aux présentes observations indiquent que pour 93% de la population des animaux non infectés le **PPR** est inférieur à 21%, et pour 90% des animaux infectés, le **PPR** est supérieur à 50%. Lors de l'infection le **PPR** passe d'une valeur moyenne de 0% à une valeur moyenne de 100%, en 3 à 8 semaines environ. Si l'infection persiste, le **PPR** reste élevé, généralement supérieur à 100%. Après traitement curatif stérilisant, ou s'il y a stérilisation spontanée, le **PPR** passe d'une valeur supérieure à 100% à une valeur inférieure à 21% en 2 à 4 mois environ.

**Interprétation des résultats individuels :** Lorsque le **PPR** d'un animal est supérieur à 50%, la probabilité pour que l'animal soit infecté est très élevée, en particulier en l'absence de traitement trypanocide récent ; Lorsque le **PPR** est inférieur à 21%, la probabilité pour que l'animal ne soit pas infecté est voisine de 98%. En l'absence de résultat positif au test de WOO, la probabilité pour que cet animal soit porteur du parasite est négligeable.



#### Légende :

**PPRm troupeau** : moyenne des PPR de l'ensemble des animaux ;

**PPRmP** : moyenne des PPR des animaux positifs (dont le PPR  $\geq 50\%$ ) ;

**PPRmN** : moyenne des PPR des animaux négatifs (dont le PPR  $< 50\%$ ) ;

**Séroprévalence** : pourcentage d'animaux dont le PPR est  $\geq 50\%$ .

**Commentaire** : Les paramètres indiqués sont ceux d'un lot de 23 bovins récemment importés de métropole, naturellement infectés par *T. vivax*, et traités au chlorure d'isométymidium le 25/06/96 (0,5mg/Kg en intramusculaire (IM)).

Figure 22 : Evolution de la réponse sérologiques de bovins infectés par *T. vivax* après traitement



### **Interprétation des résultats dans un troupeau :**

\*Dans un troupeau indemne, le PPRm est voisine de 0%.

\*Dans un troupeau initialement indemne, l'infection provoque l'apparition de quelques PPR élevés (>100%), alors que le PPRmN reste très bas.

\*Puis, si des vecteurs efficaces sont présents, et en l'absence de mesures de contrôle, des PPR élevés apparaissent, de manière homogène, sur l'ensemble du troupeau. Le PPRm du troupeau est alors très élevé.

\*Par la suite, sous l'effet des traitements ou des stérilisations spontanées certains animaux redeviennent négatifs, d'autres restent porteurs et conservent des PPR élevés. Les PPR du troupeau deviennent hétérogènes. Les PPRmN sont élevés, signant l'existence d'animaux en cours de séroconversion négative.

\*Si un traitement curatif stérilisant est appliqué à la totalité du troupeau l'ensemble des PPR (et donc le PPRm) repasse sous la barre des 50% en 3 à 4 mois.

\*Dans le cas contraire on peut observer de nouvelles généralisations à l'ensemble du troupeau lorsque les facteurs épidémiologiques y sont favorables, le PPRm augmentera à nouveau.

La connaissance de ces variations facilite l'interprétation individuelle ou collective des résultats des ELISA, qui sont à la fois qualitatifs (supérieur ou inférieur au SP) et quantitatifs (valeur du PPR).

## **2.5 EVALUATION DE L'ELISA-INDIRECTE *T. VIVAX* CHEZ DES MOUTONS EXPERIMENTALEMENT INFECTES AVEC DES SOUCHES LOCALES DE *T. VIVAX***

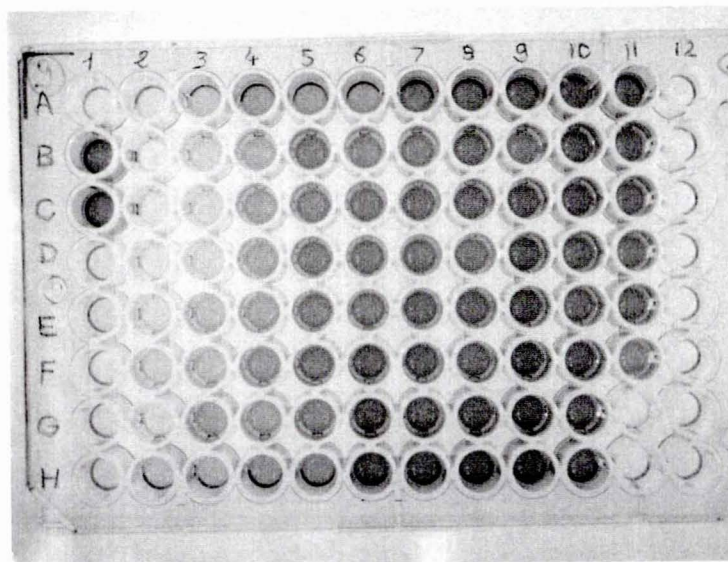
Dans cette espèce, l'évaluation des caractéristiques du test a été réalisée dans des conditions expérimentales. Des travaux préliminaires indiquent que l'utilisation de plasma ou de sérum n'affecte pas les résultats des ELISA-indirectes.

### **2.5.1 Matériel et méthode**

Les protocoles d'infections expérimentales des animaux sont décrits au chapitre 5. Treize moutons sont expérimentalement infectés avec une des 4 souches sud-américaines de *T. vivax* disponibles (3 souches de Guyane Française et 1 souche du Venezuela). Dans la mesure du possible, un prélèvement sanguin sur héparine est réalisé quotidiennement, afin de procéder à l'estimation de la parasitémie (méthode décrite au chapitre 3, §1.3) et l'ELISA-indirecte *T. vivax* sur plasma. Les ELISA-indirectes sont réalisées selon la technique décrite dans l'**annexe 2.3.2**, avec un conjugué commercial anti-IgG de mouton utilisé au 1/1000<sup>ième</sup> (A-3415 Anti-sheep IgG (Whole molecule) peroxidase conjugate, SIGMA®). Un témoin négatif est collecté en grande quantité sur un mouton avant infection, et un témoin positif est collecté en grande quantité sur ce même animal au terme du premier mois d'infection. Les témoins sont aliquotés et stockés à -20°C ou -80°C, pour une bonne conservation. Les résultats des ELISA sont exprimés en PPR, comme indiqué précédemment pour les bovins. Le SP est fixé arbitrairement à 50% de PPR. L'évaluation des performances du test est réalisée selon les indications de CUISANCE (1995).

### **2.5.2 Résultats**

Avant l'infection, tous les animaux présentent des PPR inférieurs à 5%. Les PPR augmentent rapidement et restent élevés tout au long de l'infection ; à titre d'illustration, la plaque ELISA d'un animal prélevé quotidiennement pendant 80 jours après l'infection est reproduite à la **figure 23**.



**Légende :**

puits A1 vide ;

puits B1-C1 : témoins positifs ;

puits D1-E1 témoins négatifs ;

puits F1 à F11 : sérum du mouton infecté ; les sérums sont disposés en colonne par ordre chronologique de leur prélèvements quotidiens ;

puits G11 à H12 : vides ;

puits F1 = jour J0 de l'infection ; G1 = J1 de l'infection ; H1 = J2 de l'infection ; A2 = J3 de l'infection, etc.

**Commentaire :** la réaction devient visible aux alentours de J10 (puits H2); les résultats ne laissent aucun doute à partir de J19 ( puits A4).

**Figure 23 : Plaque ELISA-indirecte *T. vivax* d'un mouton expérimentalement infecté par *T. vivax***



Sur les 13 animaux infectés il n'est pas observé de différence notable entre les réponses aux tests en fonction de la souche infectante ; une illustration de l'évolution des PPR des animaux infectés par *T. vivax* est présentée à la **figure 24**; les PPR négatifs (avant ou en tout début d'infection) ne sont pas représentés, la valeur zéro leur est attribuée. Lorsque les écarts entre deux prélèvements sont inférieurs à deux jours, ces jours ne sont pas représentés sur l'échelle de temps afin de préserver la continuité des graphes; si les écarts sont plus importants ils sont reproduits sur les graphes et éventuellement indiqués dans le texte.

Le PPR des échantillons croît rapidement après l'infection, atteignant 30% en 7 à 15 jours, et 50% en 12 à 30 jours. Les échantillons de tous les animaux ont dépassé le PPR 100% entre 40 et 75 jours après l'infection. Les PPR restent généralement supérieurs au SP pendant toute la durée de l'infection, que les parasites soient ou non détectables par l'HCT. Lorsqu'un traitement curatif non stérilisant est réalisé, le PPR cesse de croître (**figure 24 a**), diminue parfois pendant une période de 10 à 20 jours (**figure 24 c**), puis réaugmente ou reste élevé. Dans tous les cas il ne passe pas sous la barre des 30% de PPR.

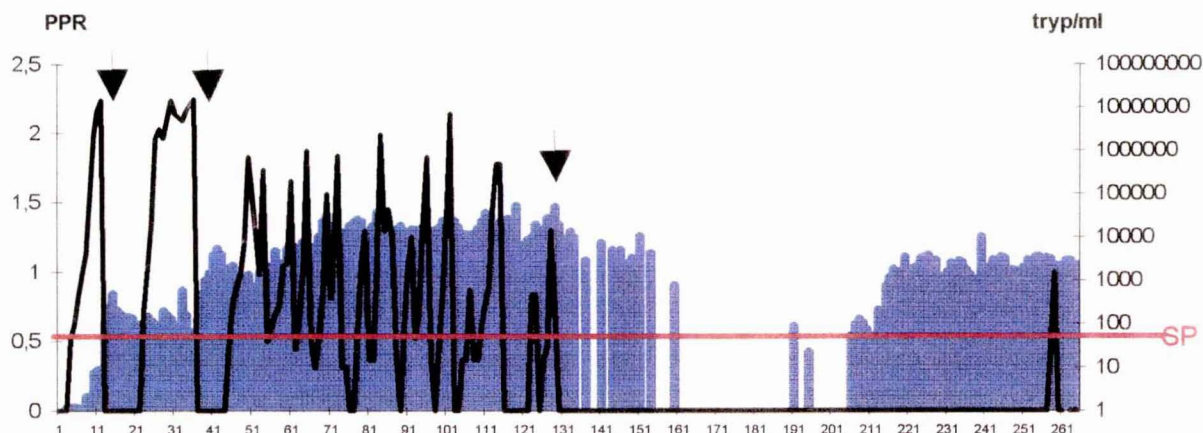
Les valeurs de PPR repassent sous la barre des 30% 2 à 3 mois après un traitement curatif stérilisant (**figure 24 c et e**) (les effets des traitements trypanocides sont commentés au chapitre5, § 1.2).

### 2.5.3 Discussion-Conclusion

Le test est robuste, puisqu'au-delà du 20<sup>ème</sup> jour d'infection il donne presque toujours des résultats positifs; sa sensibilité est donc satisfaisante. En revanche, pendant les 2 à 3 mois qui suivent un traitement curatif stérilisant, le PPR reste assez élevé, fournissant ainsi des résultats faussement positifs. La spécificité est donc plus faible pendant cette période. La connaissance du contexte épidémiologique des élevages permet d'interpréter les résultats du test de manière optimale.

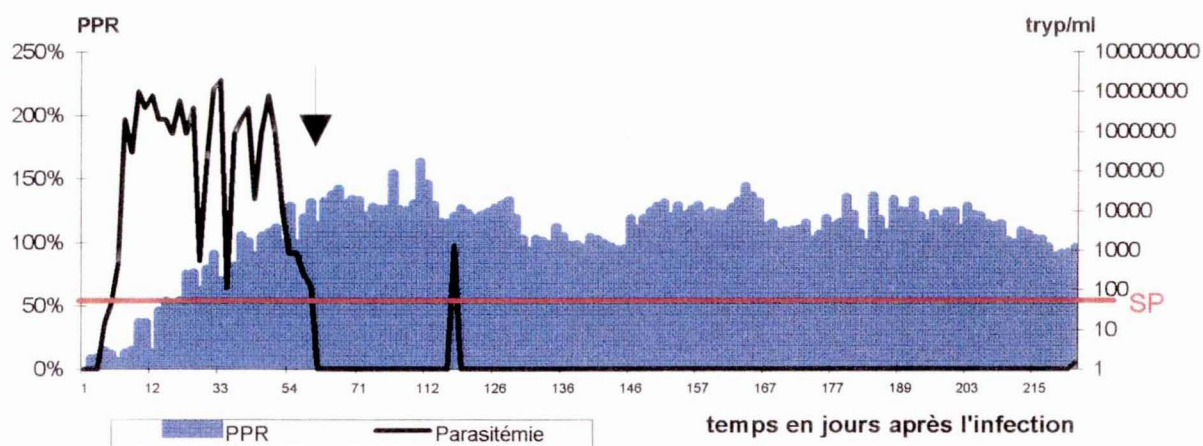
Sur 7 moutons infectés expérimentalement avec *T. vivax* et suivis quotidiennement pendant 7 mois (1226 prélèvements), l'ELISA-indirecte *T. vivax* n'a donné qu'une moyenne de 9,81% de résultats faussement négatifs, la plupart en début d'infection, avant que la conversion sérologique n'ait lieu. En procédant à la fois à l'HCT et à l'ELISA, le nombre de diagnostics faussement négatifs tombe à 2,76%. Sur le terrain, l'association des deux tests est donc favorable, en particulier lors d'infections récentes (foyers épizootiques).

Les infections naturelles des moutons sur le terrain n'ont pas fourni suffisamment de données pour permettre d'établir les réponses moyennes de moutons indemnes ou infectés par *T. vivax* en Guyane Française; toutefois, ces observations ajoutées aux études expérimentales menées au laboratoire ont permis d'établir le SP du test chez les moutons à 50% de PPR avec les échantillons de référence choisis.



**Commentaire :** entre J131 et J 205, les prélèvements n'ont pu être assurés quotidiennement mais aucune valeur de PPR n'est inférieure à 30% ; l'infection persiste et le taux d'anticorps reste élevé.

**Figure 24 a : PPR et parasitémie du mouton 1**



**Figure 24 b : PPR et parasitémie du mouton 7**

**Légende :** SP = seuil de positivité de l'ELISA-indirecte *T. vivax* ;  
 ↓ les flèches verticales indiquent des traitements à l'acéturate de diminazène (traitements non stérilisants)

**Figure 24 : Evolution quotidienne du PPR (ELISA-indirecte *T. vivax*) et de la parasitémie chez des moutons expérimentalement infectés par *T. vivax***



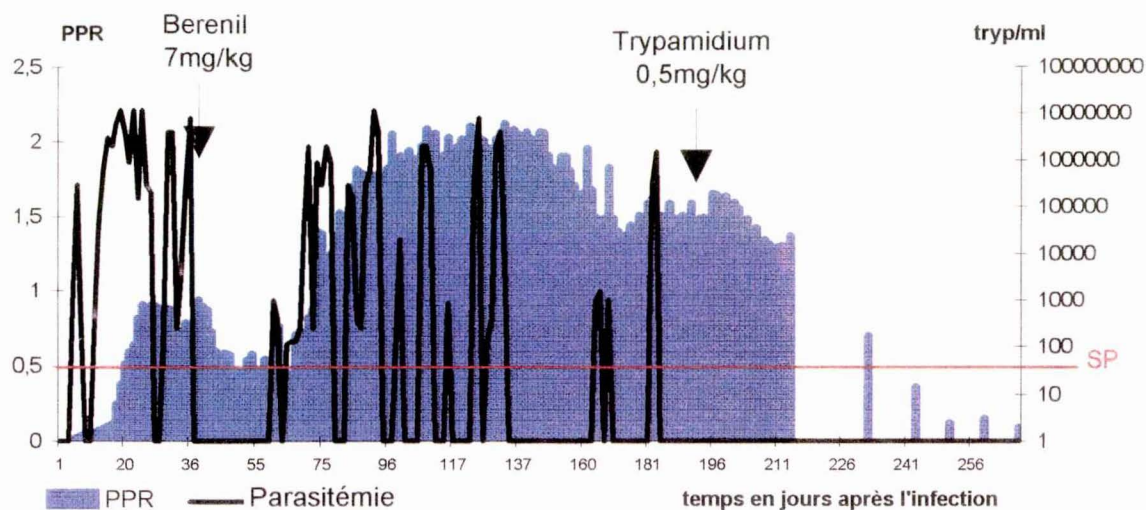


Figure 24 c : PPR et parasitémie du mouton 9

**Commentaire :** l'échantillonnage partiel a permis d'établir que le PPR repassait sous la barre des 30% à partir de J246, soit 60 jours après un traitement stérilisant.

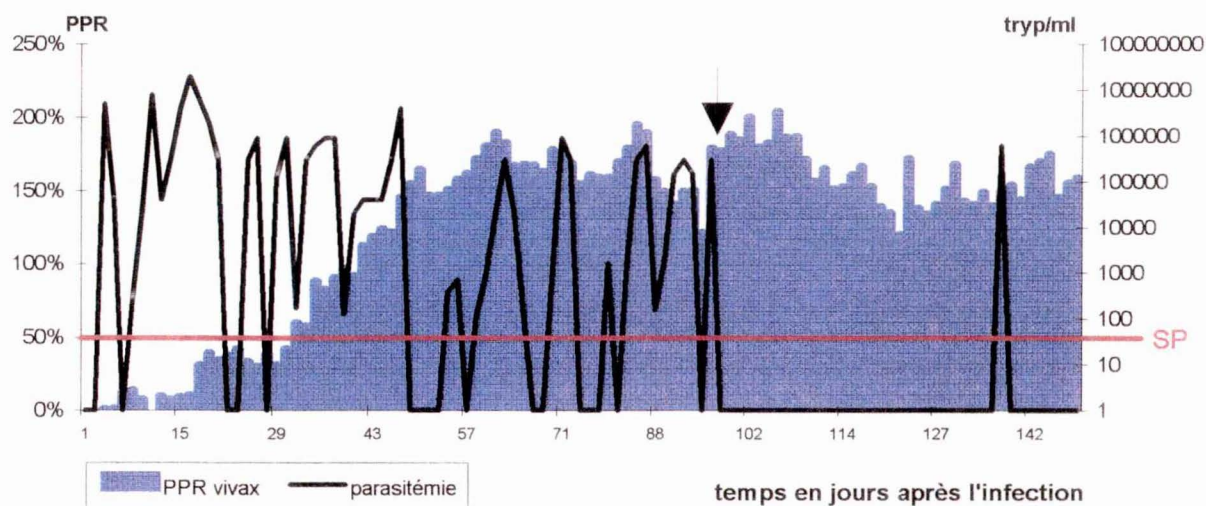
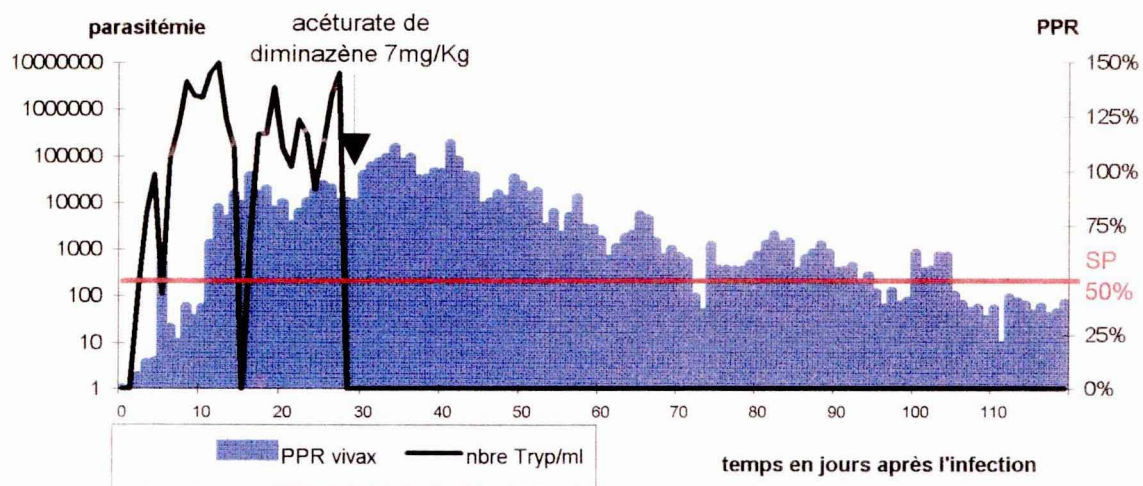


Figure 24 d : PPR et parasitémie du mouton 12

**Légende :** SP = seuil de positivité de l'ELISA-indirecte *T. vivax* ;  
 ↓ sauf indication contraire, les flèches verticales indiquent les dates des traitements à l'acéturate de diminazène (Berenil<sup>ND</sup>).

**Figure 24 :** Evolution quotidienne du PPR (ELISA-indirecte *T. vivax*) et de la parasitémie chez des moutons expérimentalement infectés par *T. vivax* (suite)



**Légende :** ↓ date du traitement.

**Commentaire :** le PPR passe sous le SP environ 80 jours après un traitement stérilisant

**Figure 24 e : PPR et parasitémie du mouton 11 (TVFG3)**

**Figure 24 : Evolution quotidienne du PPR (ELISA-indirecte *T. vivax*) et de la parasitémie chez des moutons expérimentalement infectés par *T. vivax* (fin)**



## **2.6 INTÉRÊT DES ANTIGÈNES DE *T. EVANSI* POUR LA DÉTECTION DES INFECTIONS DU BÉTAIL PAR *TRYPANOSOMA* SPP.**

*T. vivax* se cultive très difficilement *in vitro*; en pratique on considère que la production des antigènes de *T. vivax* ne peut se faire qu'*in vivo*; la règle générale étant d'utiliser une souche de *T. vivax* adaptée aux rongeurs, que l'on cultive sur rats irradiés afin d'obtenir une production maximale de parasites. En revanche, toutes les souches de *T. evansi* se cultivent très facilement chez les rongeurs sans irradiation préalable. Pour ces raisons, l'utilisation des antigènes de *T. evansi* pour le diagnostic des infections des ruminants par *T. vivax* (et *T. evansi*) intéresse les laboratoires. Les communautés antigéniques entre ces espèces sont connues et/ou soupçonnées depuis longtemps, mais leur utilisation à des fins diagnostiques, ainsi que leur impact dans les enquêtes séro-épidémiologiques restent à déterminer.

De rares travaux ont été réalisés sur ce sujet, notamment par ROSSI *et al.* (1993 et 1995). L'étude qualitative des antigènes de *T. evansi* reconnus en western-blotting par les sérums d'animaux infectés par *T. vivax* montre des croisements très importants entre ces espèces; ROSSI *et al.* (1995) observent une quinzaine de bandes de polypeptides allant de 25 à 117 KDa, certains sont reconnus par tous les animaux (indemnes et infectés), d'autres seulement par des animaux infectés; un seul de ces polypeptides est reconnu fréquemment par les animaux infectés et rarement par les animaux indemnes (96 KDa); apparemment aucun polypeptide n'est apparu totalement satisfaisant pour une utilisation diagnostique. La reconnaissance des antigènes de *T. vivax* par des animaux infectés par *T. evansi* n'a pas été étudiée; si elle n'a pas d'application diagnostique, elle représente une source d'interférence dans les enquêtes sérologiques. Nos expériences ont donc porté sur la reconnaissance réciproque.

### **2.6.1 Etude qualitative (western-blottings)**

Une étude qualitative a été réalisée afin de comparer la reconnaissance antigène/anticorps de sérums de moutons infectés par *T. vivax* ou par *T. evansi*, selon que l'on utilise pour leur détection les antigènes de *T. vivax* ou ceux de *T. evansi*. Lorsque l'antigène utilisé pour la détection des anticorps est celui du parasite infectant on parle de système homologue, dans le cas contraire on parle de système hétérologue.

**Matériel et méthode :** 10 moutons indemnes sont expérimentalement infectés par *T. vivax* et 4 par *T. evansi* (protocole d'infection décrit au chapitre 5, §1.2). Les animaux sont prélevés avant l'infection puis tous les dix jours pendant 50 jours. Les sérums pré-infection servent de témoins négatifs. Au total 84 échantillons sont testés. Les antigènes *T. vivax* ou *T. evansi* habituellement utilisés pour la sensibilisation des plaques ELISA sont déposés sur des gels de polyacrylamide, pour électrophorèse, puis transférés sur nitrocellulose. Des lanières de nitrocellulose sont découpées, saturées avec du lait écrémé, puis incubées avec les sérums de moutons. Les réactions homologues et hétérologues sont réalisées selon un protocole classique de western-blotting, et l'existence de bandes communes ou singulières est analysée.

**Résultats :** Avec les sérums témoins, les lanières de nitrocellulose présentent parfois une coloration diffuse, mais aucune bande individualisée n'est visible, quel que soit l'antigène utilisé.

Avec les antigènes de *T. evansi*, les sérums des moutons infectés par *T. vivax* ou par *T. evansi* reconnaissent en commun un grand nombre de polypeptides, avec des poids moléculaires de 160, 140, 72, 70, et 56 KDa, une large bande de 48,5 à 53 KDa, et une bande de 30 KDa; d'autres bandes, mineures, sont reconnues de manière inconstante d'un animal à l'autre, ou d'un stade de l'infection à l'autre. La zone de

réactivité commune maximale est celle dont les poids moléculaires s'étendent de 48,5 à 53 KDa. La bande de 96 KDa décrite par ROSSI *et al.* (1995) n'a pas été retrouvée. Seule la bande de 70 KDa semble avoir une certaine spécificité de l'infection par *T. evansi*. Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces premiers travaux.

Avec les antigènes de *T. vivax*, les sérums des moutons infectés par *T. vivax* ou par *T. evansi* reconnaissent en commun des polypeptides dont les poids moléculaires ont été évalués à 70 et 68 KDa, ainsi qu'une bande continue de forte réactivité, s'étendant de 64 à 56, voire jusqu'à 40 KDa. D'autres bandes, nombreuses, sont reconnues de manière inconstante. Deux bandes de 22 et 26 KDa sont reconnues uniquement par des moutons infectés par *T. vivax*. Deux bandes de 180 et 190 KDa sont reconnues par tous les animaux infectés par *T. vivax* mais par aucun des animaux infectés par *T. evansi*; ces polypeptides pourraient avoir un intérêt diagnostique, mais des études complémentaires sur un plus grand nombre d'échantillons sont nécessaires pour connaître la fréquence de cette reconnaissance dans des populations d'animaux infectés.

## 2.6.2 Etude quantitative (ELISA-indirectes)

Une étude quantitative de la réponse ELISA a été réalisée en comparant les PPR obtenus dans les systèmes homologue et hétérologue.

**Matériel et méthode :** Deux moutons sont expérimentalement infectés par une souche de *T. evansi* du Venezuela (TEVA1) et 2 autres avec une souche de *T. vivax* du Venezuela TVVG1.

Les animaux sont prélevés quotidiennement pendant 125 à 430 jours.

Pour chaque prélèvement la parasitémie est établie (HCT et/ou lecture directe entre lame et lamelle, cf. chapitre 3, §1.3) et les ELISA-indirectes *T. vivax* et *T. evansi* sont réalisées.

Pour les échantillons prélevés au-delà du dixième jour d'infection (délai de séroconversion moyen), les PPR moyens obtenus sur toute la durée des suivis sont calculés dans les deux systèmes, et les rapports moyens « Rmv/e » = « PPR moyen ELISA-indirecte *T. vivax* / PPR moyen ELISA-indirecte *T. evansi* » sont calculés puis analysés.

**Résultats :** La **figure 25** indique les PPR obtenus en système homologue (trait continu) et hétérologue (trait discontinu) chez les 2 animaux infectés par *T. vivax* ; la **figure 26** indique les PPR obtenus en système homologue (trait continu) et hétérologue (trait discontinu) chez les 2 animaux infectés par *T. evansi* ; dans les deux cas les parasitémies sont indiquées par des histogrammes grisés.

Cette étude révèle que les PPR obtenus chez les animaux infectés par *T. vivax* sont très voisins en système homologue et en système hétérologue (**figure 25**). Le Rmv/e des échantillons collectés après J10 est de 1,14 +/- 0,38. En d'autres termes, les antigènes de *T. evansi* permettent de détecter les anticorps dirigés contre *T. vivax*, avec une sensibilité comparable (rapport des PPR proche de 1) à celle obtenue en utilisant les antigènes de *T. vivax*. Le dépistage des animaux infectés par *T. vivax* est donc possible en ELISA-indirecte avec les antigène de *T. evansi*; des études sur un plus grand nombre d'animaux et à l'aide d'autres souches parasitaires sont toutefois nécessaires afin de confirmer ces observations.

L'étude des réponses sérologiques des animaux infectés par *T. evansi* montre une réponse forte sur antigène homologue, mais faible ou négligeable sur antigène hétérologue (**figure 26**); les échantillons présentent toutefois quelques réponses élevées en système hétérologue, qui atteignent rarement 50% de



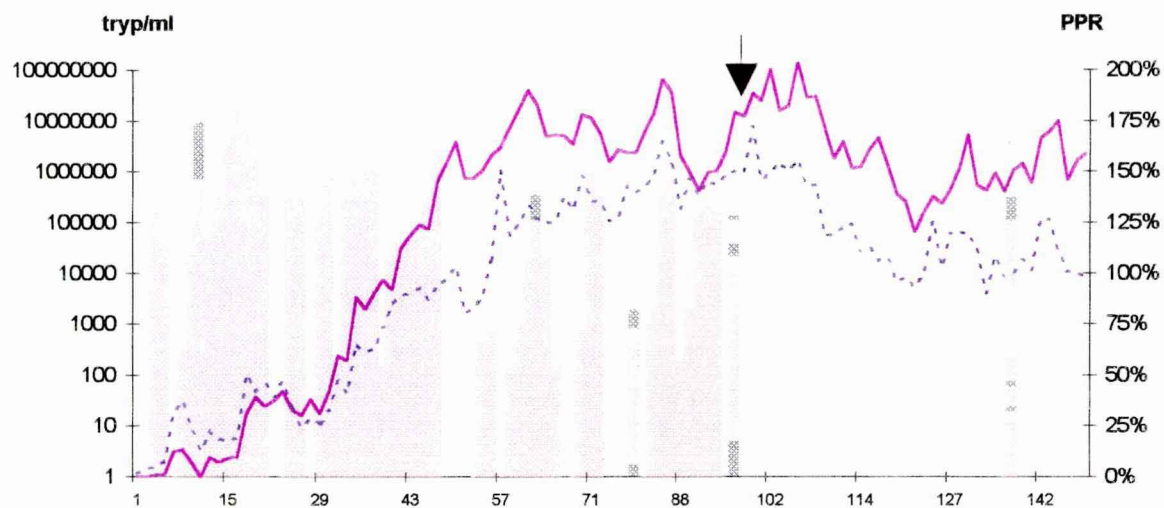


Figure 25 a : mouton 12

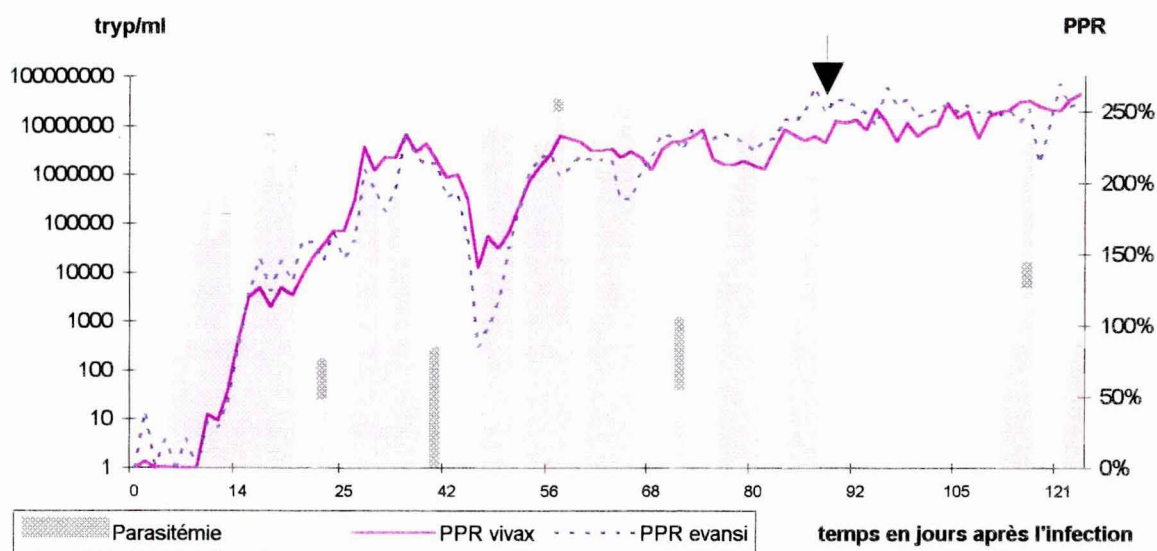


Figure 25 b : mouton 13

**Légende :**

les PPR sont représentés par un trait continu en système homologue et par un trait discontinu en système hétérologue.

↓ Les flèches verticales indiquent des traitements à l'acéturate de diminazène qui seront commentés ultérieurement ; ils sont toutefois représentés car ils engendrent une modification de la réponse immunitaire.

**Commentaire :** dans ces cas d'infection par *T. vivax*, les PPR des systèmes hétérologue et homologue sont très voisins; la détection des infections par *T. vivax* peut donc être faite à l'aide de l'ELISA-indirecte *T. evansi* avec une sensibilité voisine de celle de l'ELISA-indirecte *T. vivax*.

Figure 25 : Evolution de la parasitémie et des PPR en système homologue (ELISA-indirecte *T. vivax*) et en système hétérologue (ELISA-indirecte *T. evansi*) chez 2 moutons infectés par *T. vivax*

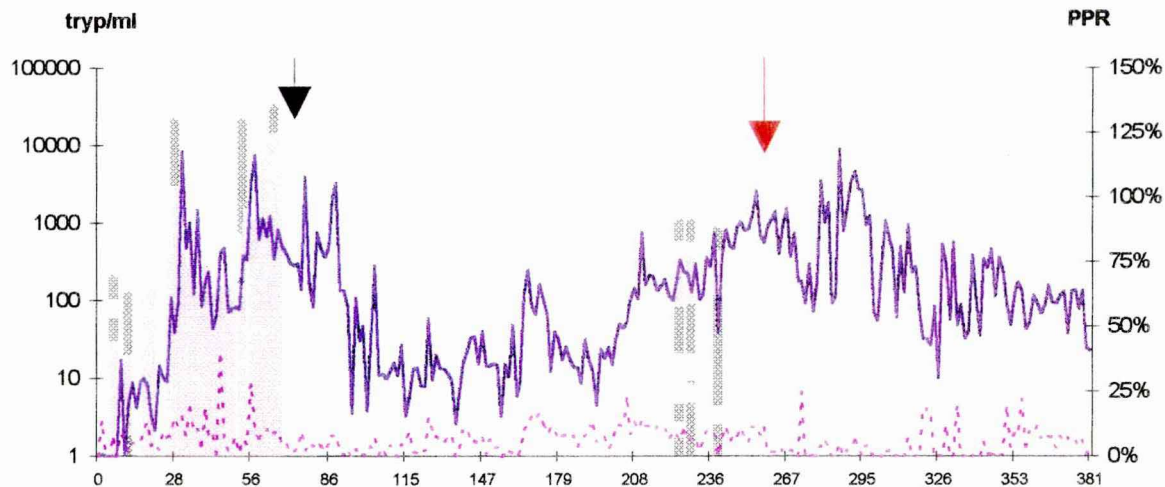


Figure 26 a : mouton 14

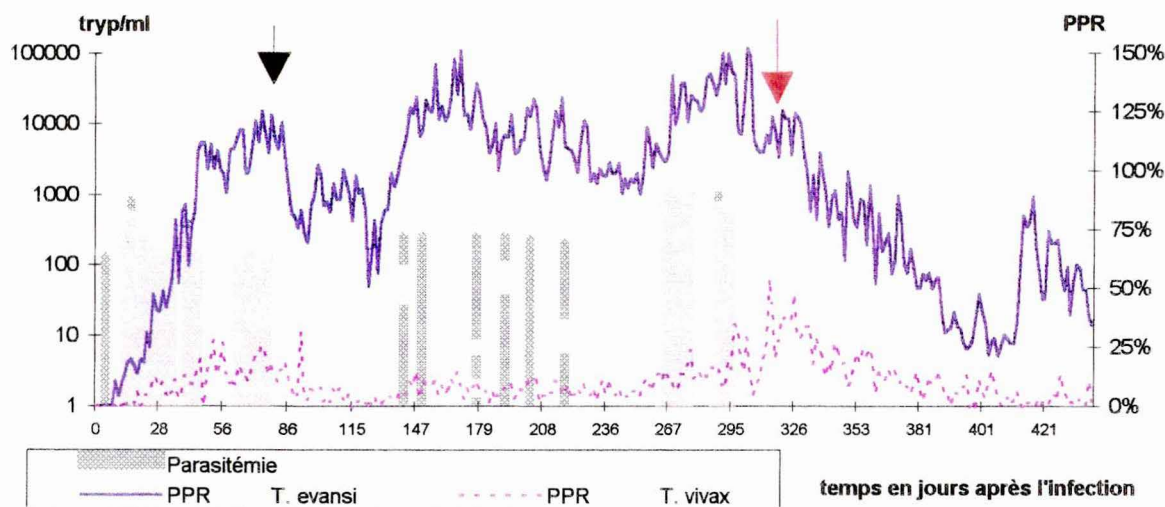


Figure 26 b : mouton 15

**Légende :**

les PPR sont représentés par un trait continu en système homologue et par un trait discontinu en système hétérologue.  
 ➔ date des traitements à l'acéturate de diminazène (courtes flèches noires)  
 ➔ date des traitements au chlorure d'isométymidium (longues flèches rouges) ;  
 les effets des traitements seront commentés ultérieurement ; ils sont toutefois représentés car ils engendrent une modification de la réponse immunitaire.

**Commentaire :** dans ces cas d'infection par *T. evansi*, les PPR en système homologue sont beaucoup plus élevés qu'en système hétérologue. L'obtention d'un PPR élevé en *T. evansi* et faible en *T. vivax* est donc en faveur d'une infection à *T. evansi*.

Figure 26 : Evolution de la parasitémie et des PPR en système homologue (ELISA-indirecte *T. evansi*) et en système hétérologue (ELISA-indirecte *T. vivax*) chez 2 moutons infectés par *T. evansi*



PPR. Ces observations confirment qu'il y a une possible interférence des infections par *T. evansi* lors d'enquêtes à l'aide des antigènes de *T. vivax*; mais que cette interférence semble faible ; toutefois des études sur un plus grand nombre d'animaux sont nécessaires pour conclure sur son importance. Le dépistage des infections par *T. evansi* à l'aide des antigènes de *T. vivax* serait très peu sensible ; cette alternative est de toute manière sans intérêt compte tenu des difficultés de production des antigènes de *T. vivax*.

Pour la totalité des échantillons collecté après J10 sur ces deux animaux, le Rmv/e est de 0,12 +/- 0,20; en d'autres termes, avec les antigènes de *T. vivax*, les PPR des animaux infectés par *T. evansi* sont en moyenne 8 fois inférieurs à ceux des animaux infectés par *T. vivax* ; ce qui permet de distinguer les deux infections. On peut, en première approximation, considérer que si ce rapport est inférieur au rapport moyen + 2 X écart type du rapport moyen, soit  $0,12 + 2 \times 0,10 = 0,32$ , l'infection est très probablement due à *T. evansi*. On interprétera donc les résultats de terrain de la manière suivante :

si  $Rv/e < 0,32$  infection due à *T. evansi* seul ;

si  $Rv/e \geq 0,32$  infection due à *T. vivax* (+/- *T. evansi*). En cas d'infections potentiellement mixtes l'interprétation des résultats n'est pas possible.

Ces observations devront être confirmées par des études sur un plus grand nombre d'animaux.

### 2.6.3 Persistance des anticorps après traitement

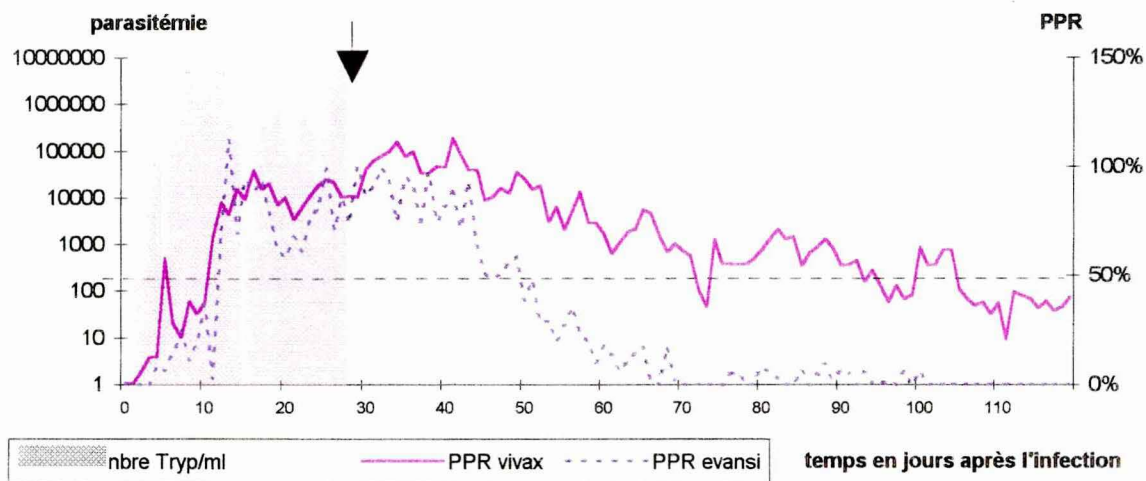
L'étude de l'évolution des PPR ELISA-indirecte *T. vivax* chez un animal infecté par *T. vivax* a révélé un temps de séroconversion négative de 2 à 3 mois (§ 2.5, exemple figure 24 e).

Dans une expérience voisine de celle décrite au § 2.6.2, un mouton infecté par *T. vivax* (TVFG3) reçoit un traitement trypanocide stérilisant (acéturate de diminazène 7mg/kg en IM) 28 jours après l'inoculation du parasite ; l'animal est prélevé quotidiennement pour l'HCT et les ELISA-indirectes homologue et hétérologue. La parasitémie et les PPR sont indiqués à la figure 25 c.

Après traitement stérilisant, la chute du PPR en système hétérologue (ELISA-indirecte *T. evansi*) est beaucoup plus rapide (20 jours environ), qu'en système homologue ELISA-indirecte *T. vivax* (80 jours environ). Le système hétérologue présente donc une inertie immunitaire moindre que le système homologue. Cette observation pourrait avoir son application dans l'évaluation de l'efficacité des trypanocides sur le terrain. En réalisant un diagnostic en système hétérologue 3 à 4 semaines après un traitement il serait possible d'évaluer son efficacité, alors qu'en système homologue, il faut attendre 2 à 3 mois avant de pouvoir établir l'efficacité du traitement.

### 2.6.4 Application des ELISA homologue et hétérologue chez les bovins

**Matériel et méthode :** Afin de vérifier que les réponses chez les bovins sur le terrain sont du même type que celles enregistrées chez les moutons au laboratoire, la réalisation simultanée de l'HCT, des ELISA-indirecte *T. evansi* et ELISA-indirecte *T. vivax* a été faite sur 139 sérums de bovins du Suriname et 390 du Guyana. Un SP de 50% est appliqué aux 2 systèmes. Quand les réponses des deux systèmes sont discordantes, le rapport  $Rv/e = \text{« PPR ELISA-indirecte } T. vivax / \text{PPR ELISA-indirecte } T. evansi \text{ »}$  est étudié.



**Légende :** les PPR sont représentés par un trait continu en système homologue et par un trait discontinu en système hétérologue.

→ date du traitement à l'acéturate de diminazène (7mg/kg en IM) ;

**Commentaire :** le traitement engendre une chute des PPR, rapide en système hétérologue, et lente en système homologue.

**Figure 25 c : Evolution de la parasitémie et des PPR en système homologue (ELISA-indirecte *T. vivax*) et en système hétérologue (ELISA-indirecte *T. evansi*) chez 1 mouton infecté par *T. vivax***

Quand l'HCT est positive, les échantillons de sérum sont également testés par PCR avec les amorces spécifiques pour *T. vivax*, *T. evansi* et *T. cruzi* selon les techniques décrites au §4, afin de confirmer l'espèce en cause.

Comme indiqué chez les moutons, un PPR voisin dans les deux systèmes sera favorable à une infection par *T. vivax* ; un PPR *T. evansi* (PPR<sub>Te</sub>) plus de 3 fois supérieur au PPR *T. vivax* (PPR<sub>Tv</sub>) sera favorable à une infection par *T. evansi*. Ce système ne permet toutefois pas de distinguer les infections mixtes.



**Résultats-discussion :** Sur 139 sérums de bovins du Suriname, 42 sont positifs en ELISA-indirecte *T. evansi*, et 41 sont positifs en ELISA-indirecte *T. vivax*. Tous les échantillons positifs en « *vivax* » sont également positifs en « *evansi* » ; les deux tests donnent des résultats très voisins, comparables à ceux obtenus chez les moutons infectés par *T. vivax*. Pour la totalité des échantillons, les rapports Rv/e sont supérieurs à 0,32, on considère donc que ces résultats révèlent des infections à *T. vivax*. Dans ce contexte, puisqu'aucun échantillon ne révèle d'infection monospécifique à *T. evansi* ( $Rv/e < 0,32$ ) on peut supposer que les infections à *T. vivax* sont également monospécifiques. Ces considérations n'ont qu'une valeur statistique, elles n'excluent pas l'existence occasionnelle de *T. evansi* dans ces échantillons.

Sur 390 sérums de bovins du Guyana, 119 sont positifs en ELISA-indirecte *T. vivax* et 123 en ELISA-indirecte *T. evansi*, avec des réponses similaires dans 117 cas. Les Rv/e sont tous supérieurs à 0,5 ; ces réponses sont donc très probablement dues à des infections par *T. vivax*. Aucune infection monospécifique par *T. evansi* n'est détectée.

Sur 7 échantillons positifs en HCT et traités en PCR, une seule infection due à *T. vivax* a été confirmée ; les amorces spécifiques pour *T. cruzi* et *T. evansi* n'ont donné aucun résultat positif.

L'ensemble de ces résultats n'est pas favorable à l'existence d'infections par *T. evansi* dans ces échantillons de bovins des Guyanes étrangères ; ils ne corroborent pas les résultats obtenus par LA ROCQUE (1994) et VAN VLAENDEREN (1996), mais ne portent que sur un nombre limité d'échantillons. En outre, le système ne permet pas de détecter la présence de *T. evansi* lorsqu'elle est concomitante de celle de *T. vivax*.

Il apparaît que, sur le terrain, l'ELISA-indirecte *T. evansi* permet de détecter avec une très bonne sensibilité les infections des bovins par *T. vivax*.

#### 2.6.4 CONCLUSION

Des études complémentaires sont nécessaires pour affiner les connaissances, mais on peut déjà considérer que l'ELISA-indirecte *T. evansi* permet la détection des infections par *T. vivax* chez les bovins et les ovins, et pourrait être mise à profit dans des enquêtes séro-épidémiologiques.

En outre, dans une étude réalisée en collaboration avec l'ORSTOM de La Paz (Bolivie), le dépistage, chez l'homme, de la maladie de Chagas par ELISA-indirecte *T. evansi* a également donné satisfaction, avec une sensibilité très voisine de celle obtenue avec les tests homologues (DESQUESNES et TRESSE, 1997). Dans ce dernier cas l'intérêt réside dans le fait que la production de *T. evansi* nécessite peu d'équipement, est peu onéreuse et sans danger pour la santé humaine, contrairement à la production de *T. cruzi*. En outre, ces travaux confirment les communautés antigéniques fortes entre *T. evansi* et *T. cruzi*, et donc la capacité d'interférence de ce dernier dans le diagnostic chez le bétail.

De tels croisements sérologiques chez les animaux infectés par *T. cruzi*, *T. vivax*, *T. equiperdum* et/ou *T. evansi* peuvent être exploités au titre du diagnostic, mais à l'inverse, ils peuvent interférer dans les études séro-épidémiologiques. MONZON et COLMAN (1988) ont étudié les croisements entre *T. cruzi* et *T. evansi* chez le cheval, mais dans la plupart des cas, des travaux monospécifiques ne font pas cas de ces interférences entre espèces. Ainsi, et par exemple, dans les études menées par FERRIS (1984) et WELLS

*et al.* (1977 a) sur *T. vivax* chez les bovins en Amérique Latine, l'interférence des autres trypanosomes n'est pas prise en compte. Dans celle de GREINER *et al.* (1994) sur *T. evansi* chez le chien au Brésil, l'interférence de *T. cruzi* n'est pas prise en compte. Inversement, dans l'étude de FUJITA *et al.* (1994) sur *T. cruzi* chez les porcs, les bovins, les chiens et les chats au Paraguay, l'interférence de *T. evansi* n'est pas évoquée. Enfin, récemment, lors de diagnostics sérologiques à l'importation de chevaux du Mexique vers les USA, (APHIS/USDA, Ames), des tests RFC pour la détection de la dourine ont été positifs, mais le *Trypanosoma* sp. en cause n'a pas été réellement identifié (*T. evansi*, *T. cruzi*, *T. equiperdum* et même *T. vivax* ?).

Dans les zones d'enzootie multi-spécifique, toutes les espèces de trypanosomes présents, voire d'autres parasites génétiquement proches (leishmanies) doivent être pris en considération lors d'étude séro-épidémiologiques. Le choix des outils de diagnostic doit donc être réalisé en fonction des divers parasites présents dans le secteur géographique étudié, et de leur importance relative.

### 3 DIAGNOSTICS SÉROLOGIQUES PAR RECHERCHE D'ANTIGÈNES

La recherche des anticorps par ELISA est très sensible, mais n'est pas spécifique d'espèce. Pour les études séro-épidémiologiques, il est préférable de déterminer la ou les espèces en cause. D'autre part, une réponse positive à la détection des anticorps ne permet pas d'affirmer que l'infection est contemporaine du prélèvement; la persistance de la positivité pouvant durer de 1 à 6 mois ou plus, selon les espèces (hôte et parasite) et les techniques de diagnostic utilisées. Idéalement, un test de détection des antigènes sensible et spécifique résoudrait ces problèmes et permettrait une étude approfondie et précise de l'épidémiologie des trypanosomoses.

Après une revue des techniques disponibles, la réévaluation des ELISA-immunocaptures est présentée.

#### 3.1 REVUE DES TECHNIQUES

L'utilisation de sérums hyper-immuns permet de détecter des antigènes parasitaires dans des échantillons testés par technique « ELISA-indirecte », (SINGH *et al.*, 1994; SINGH *et al.*, 1995), mais cette méthode est difficilement standardisée, car la sensibilisation des plaques est faite à l'aide de l'échantillon testé.

Pour pallier cet inconvénient, la détection des antigènes peut être réalisée par technique « ELISA-immunocapture » à l'aide d'anticorps poly- ou monoclonaux; les derniers présentant l'avantage de pouvoir être produits en grande quantité et de manière plus reproductible que les premiers.

Dans tous les cas, les anticorps sont utilisés pour sensibiliser une plaque ELISA, dont les sites non spécifiques sont ensuite occupés par des agents bloquants (gélatine, caséine, lait écrémé, polyoxyéthylène-



sorbitan monolaurate (SIGMA Tween 20<sup>®</sup>), etc.). Les sérums à tester sont incubés, et, après lavage des plaques, le ou les mêmes anticorps, conjugués à une enzyme, sont incubés. Après lavage la présence des antigènes est révélée par un complexe enzyme-substrat adapté. Dans le cas d'anticorps polyclonaux, une étape supplémentaire est réalisée avec un conjugué dirigé contre l'espèce productrice d'anticorps.

### 3.1.1 Anticorps polyclonaux

La détection des antigènes par immunocapture a tout d'abord été développée, pour *T. evansi* et *T. congolense*, à l'aide d'anticorps polyclonaux produits à partir d'extraits bruts de trypanosomes (RAE et LUCKINS, 1984). Les antigènes étaient détectés dans les 10 à 14 jours suivant l'infection, et disparaissaient dans les 21 jours suivant un traitement curatif. Toutefois la spécificité d'espèce n'était pas satisfaisante, et la production des réactifs hautement technique et laborieuse. Ces travaux ont été supplantés par la mise au point d'anticorps monoclonaux dont la production à grande échelle est beaucoup plus aisée et les perspectives de performances bien supérieures. La comparaison des performances des anticorps polyclonaux et monoclonaux pour les ELISA-immunocapture *T. evansi* s'est avérée en faveur des derniers (DIALL *et al.*, 1992).

### 3.1.2 Anticorps monoclonaux

La mise au point par NANTULYA *et al.* (1987) de trois types d'anticorps monoclonaux à partir des formes procycliques (antigènes non variables) de *T. vivax*, *T. brucei* et *T. congolense* a pratiquement interrompu les investigations précédentes.

Testés sur des lysats de formes procycliques de trypanosomes, la spécificité des monoclonaux était la suivante (entre parenthèses est indiqué le nombre de souches testées):

Monoclonal *T. brucei* : *T. brucei brucei* (6), *T. b. gambiense* (2) et *T. b. rhodesiense* (2);

Monoclonal *T. congolense* : *T. congolense* (5) et *T. simiae* (1);

Monoclonal *T. vivax* : *T. vivax* (5).

Cette spécificité correspond donc aux sous-genres des *Salivaria* dans la classification des trypanosomes. Aucun croisement entre les trois groupes n'a été observé avec des lysats parasitaires (NANTULYA *et al.*, 1987). Les auteurs concluent à la spécificité totale des anticorps monoclonaux.

A partir de ces anticorps monoclonaux *T. vivax* (IgG3), *T. brucei* (IgM) et *T. congolense* (IgM) NANTULYA et LINDQVIST (1989) ont développé des tests de détection des antigènes de trypanosomes pour les sérums de bovins, par ELISA-immunocapture (ou antigène-ELISA : Ag-ELISA); le même anticorps étant utilisé pour la capture et la révélation des antigènes (conjugué à la peroxydase).

L'évaluation des Ag-ELISA a été faite par infection expérimentale de 4 groupes de 3 ou 4 bovins à l'aide de clones de *T. vivax*, *T. brucei*, et *T. congolense* dérivés des isolats utilisés pour la fabrication des anticorps monoclonaux. Dans ces conditions la reconnaissance antigène/anticorps était élevée. Pendant les 50 premiers jours d'infection les animaux sont prélevés en moyenne 12 fois chacun, et les tests ont été positifs dans les proportions suivantes: Ag-ELISA *T. vivax* : 71%, Ag-ELISA *T. brucei* : 54%, Ag-ELISA *T. congolense* : 70% (d'après NANTULYA et LINDQVIST, 1989). Les auteurs font état de l'absence de réactions croisées entre les trois groupes d'antigènes recherchés, mais ne précisent pas si tous les sérums

de tous les animaux ont été testés en systèmes hétérologues. Ils concluent à une grande sensibilité des Ag-ELISA et confirment leur spécificité.

Partant de ces premiers résultats expérimentaux sur clones infectants, les tests ont été appliqués sur le terrain par NANTULYA *et al.* (1992). Sur 131 animaux présentant des résultats parasitologiques positifs (BCM) la sensibilité des Ag-ELISA a été de 96,2%. Sur 70 animaux présentant des résultats parasitologiques négatifs, la détection a été positive dans 35 cas (50%). Les auteurs en déduisent que l'Ag-ELISA est très sensible puisqu'il permet de détecter des animaux parasitologiquement négatifs. Ils confirment la spécificité du test en signalant qu'aucun résultat positif n'est obtenu sur 100 animaux élevés en zone indemne de trypanosomes. Il n'a toutefois pas été démontré que les animaux ayant présenté des résultats parasitologiques négatifs et des Ag-ELISA positives étaient réellement infectés, l'existence éventuelle de faux positifs en zone infectée n'a pas été évoquée.

Dans l'ensemble des travaux qui ont suivi, la sensibilité et la spécificité des réactifs n'ont jamais été remises en question, comme l'illustrent les propos de NANTULYA (1990) concernant les résultats obtenus sur le terrain pour *T. vivax* et *T. congolense*: « ...a significant number (52.6%) of the animals ... which had been missed by parasite detection techniques were found to be infected as shown by the test for antigen ». D'autres tests seront développés sur la même base et commercialisés, ainsi le Suratex<sup>®</sup> pour la détection de *T. evansi* (NANTULYA, 1994).

Par la suite, presque tous les auteurs interpréteront une Ag-ELISA positive comme une infection certaine mais non décelée par la parasitologie et utiliseront le test avec une grande confiance (NANTULYA *et al.*, 1989; RIES et CONNOR, 1993; DOKU, 1993; DIALLO *et al.*, 1993; OKUNA *et al.*, 1993; NANTULYA, 1994; SINGH *et al.* 1994; MONZON *et al.*, 1995 c).

Les Ag-ELISA ont été utilisés pour la première fois sur des échantillons de bovins d'Amérique du Sud (Guyane française) en 1991 (DESQUESNES, 1991 b, DESQUESNES et GARDINER, 1993), révélant des Ag-ELISA *T. brucei* et *T. congolense* positives sur des animaux de Guyane Française (DESQUESNES, 1995). La réévaluation des Ag-ELISA s'est alors avérée nécessaire dans le contexte sud-américain.

\* \* \*

Notons qu'une technique dite « dipstick colloidal dye immunoassay » (DIA) reposant sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux et polyclonaux a récemment été décrite par KASHIWAZAKI *et al.* (1994); cette technique pourrait être évaluée en Amérique Latine. D'autres travaux sont en cours pour la mise au point de diagnostics spécifiques d'espèce pour *T. evansi* et *T. equiperdum*, mais leur évaluation n'est pas achevée et aucun test n'est à ce jour disponible (FRAME *et al.*, 1990; BISHOP *et al.*, 1995).

### 3.2 ÉVALUATION DES AG-ELISA *T. VIVAX*, *T. BRUCEI* ET *T. CONGOLENSE*

Ce paragraphe présente la synthèse des travaux de réévaluation des Ag-ELISA, non publiés ou dont les publications sont présentées en annexe, **publication N°5 (annexe 2.4)** « Comparaison de la sensibilité du test de WOO et d'un test de détection des antigènes de *Trypanosoma vivax* chez deux moutons expérimentalement infectés avec une souche guyanaise du parasite » (DESQUESNES et LA ROCQUE, 1995), **publication N°6 (annexe 2.5)** « Evaluation of three antigen detection tests (monoclonal trapping ELISA) for African trypanosomes, with an isolate of *T. vivax* from French Guyana » (DESQUESNES, 1996) et **publication N°7 (annexe 2.6)** « Evaluation of a simple PCR technique for the diagnosis of *Trypanosoma vivax* in the serum of cattle in comparison to parasitological techniques and antigen-enzyme linked



immunosorbent assay (Ag-ELISA) » (DESQUESNES, 1997 a). La réévaluation a été faite à partir de 2953 échantillons de sérum collectés dans les élevages bovins, en Guyane Française, 130 sur des bovins importés de France métropolitaine prélevés à leur arrivée en Guyane (contrôles négatifs), 160 sur des bovins d'Afrique (ILRI, Nairobi, Kenya) et 408 sur des moutons (CIRAD-EMVT-Guyane) expérimentalement infectés avec diverses souches de *T. vivax* et *T. evansi*, soit au total 3651 échantillons.

### 3.2.1 Matériel et méthode

**Standardisation :** Les résultats des Ag-ELISAs réalisés en Guyane Française ont été contrôlés au CIRDES<sup>17</sup> et à l'ILRI. 80 échantillons provenant d'animaux importés, ou élevés, ou infectés en Guyane Française ont été adressés en aveugle au CIRDES (G. DUVALLET) et à l'ILRI (A. PEREGRINE, R. MASAKE et S. MINJA). Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les résultats des examens réalisés par les trois laboratoires. Les résultats obtenus en Guyane Française ont donc été validés. En outre, l'expérience sur les veaux a été réalisée à l'ILRI, et les diagnostics effectués par un technicien de l'ILRI (S. MINJA), afin qu'aucun doute ne puisse être émis quant à la validité des tests. Ces précautions se sont avérées nécessaires car les résultats obtenus en Guyane Française étaient diamétralement opposés à ceux antérieurement publiés par les auteurs des tests.

**Souches parasitaires :** *T. evansi* : le clone *T. evansi* RoTat 1.2 (BAJYANA-SONGA et HAMERS, 1988) adressé par le professeur VAN MEIRVENNE a été utilisé pour l'évaluation de la sensibilité de l'Ag-ELISA *T. brucei*. Deux moutons ont été expérimentalement infectés et prélevés quotidiennement pendant 36 jours.

*T. vivax* : la souche isolée par LANCELOT (1988), à partir d'un zébu, en Guyane, a été utilisée pour les infections expérimentales. L'identification des trypanosomes repose sur les observations cliniques, la morphologie et la morphométrie des parasites (LANCELOT, 1988), l'incapacité à cultiver sur souris, et la reconnaissance par PCR *T. vivax* (selon la méthode décrite par MASIGA *et al.*, 1992) et PCR et sonde ADN spécifique développée par R. MASAKE à l'ILRI (DESQUESNES, 1994 a). D'autre part les oligonucléotides spécifiques de *T. brucei* (MASIGA *et al.*, 1992) ne donnaient aucun produit détectable. La conclusion de ces travaux faisait état d'une souche pure de *T. vivax* baptisée IL4007 (DESQUESNES, 1994 a).

Quatre veaux Boran, à l'ILRI, et 2 moutons Créole X Black Belly, au CIRAD-EMVT-Guyane, ont été expérimentalement infectés avec la souche *T. vivax* IL4007. Les examens parasitologiques et les 3 Ag-ELISA *Trypanosoma* spp. sont, dans la mesure du possible, réalisés quotidiennement. *T. congolense* n'étant pas présent en Amérique Latine, l'évaluation de la sensibilité de ce test n'a pas été réalisée.

### 3.2.2 Résultats

#### 3.2.2.1 Sensibilité de l'Ag-ELISA *T. brucei*

Sur les 2 moutons, au total 70 examens sont réalisés pendant les 36 premiers jours d'infection, l'HCT est positif dans 78% des cas, et l'Ag-ELISA *T. brucei* dans 60% des cas. Les résultats sont illustrés aux figures 27 a et 28 a.

---

<sup>17</sup> Centre International de Recherche et de Développement de l'Elevage en zones Sub-humides (BoboDioulasso, Burkina Faso)

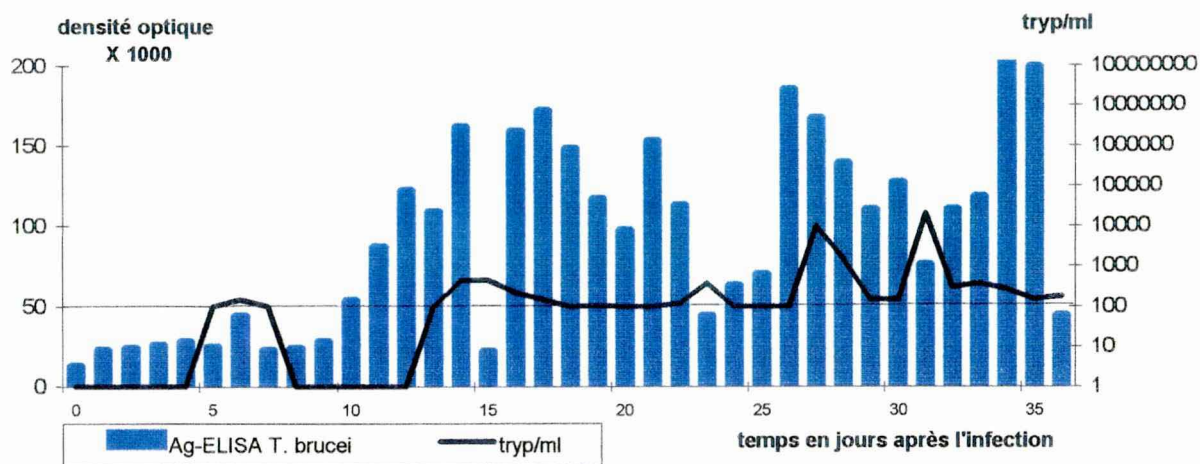


Figure 27 a : Ag-ELISA *T. brucei*

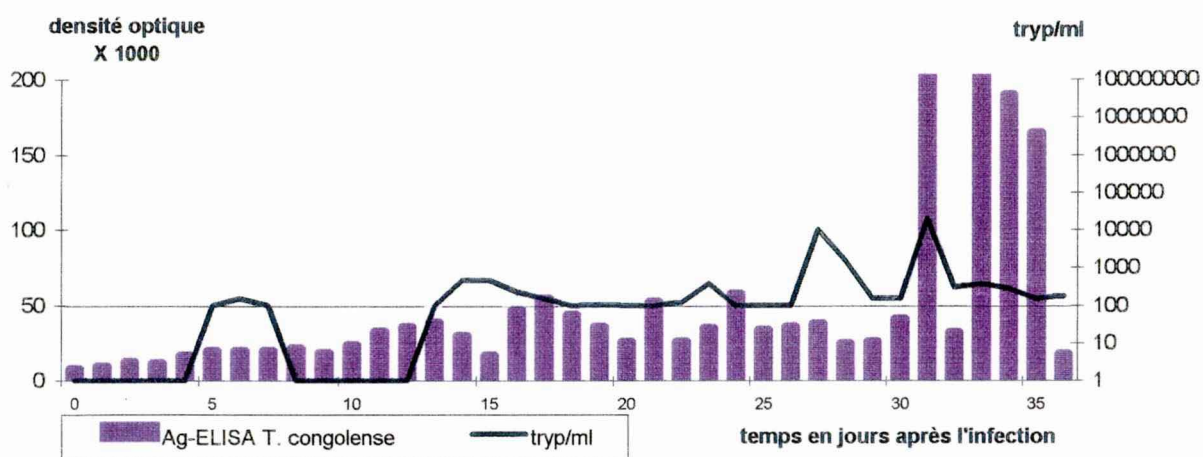


Figure 39 b : Ag-ELISA *T. congolense*

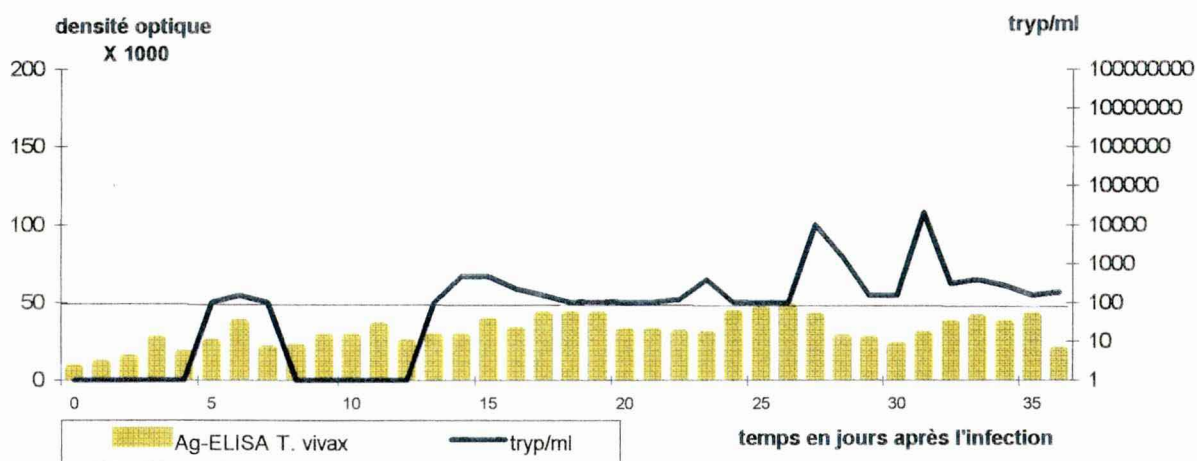


Figure 39 c : Ag-ELISA *T. vivax*

**Légende :** le seuil de positivité des tests, fixé à 50 DO pour les Ag-ELISA, est représenté par une barre horizontale ; les échantillons sont positifs en Ag-ELISA quand l'histogramme de DO dépasse ce seuil.

Figure 27 : Parasitémie et scores de densité optique aux Ag-ELISA *Trypanosoma* spp. du mouton N° 1 infecté par *T. evansi*



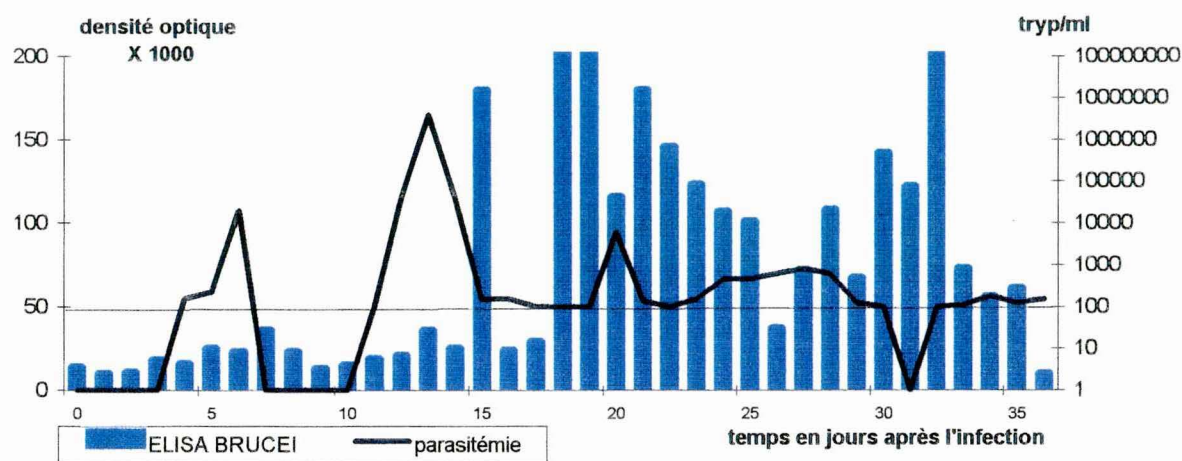


Figure 28 a : Ag-ELISA *T. brucei*

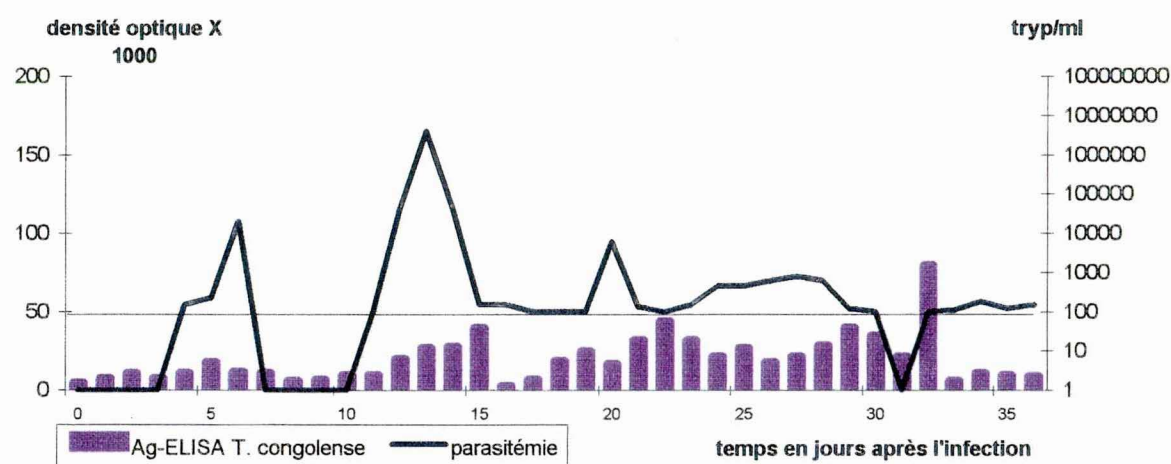


Figure 28 b : Ag-ELISA *T. congolense*

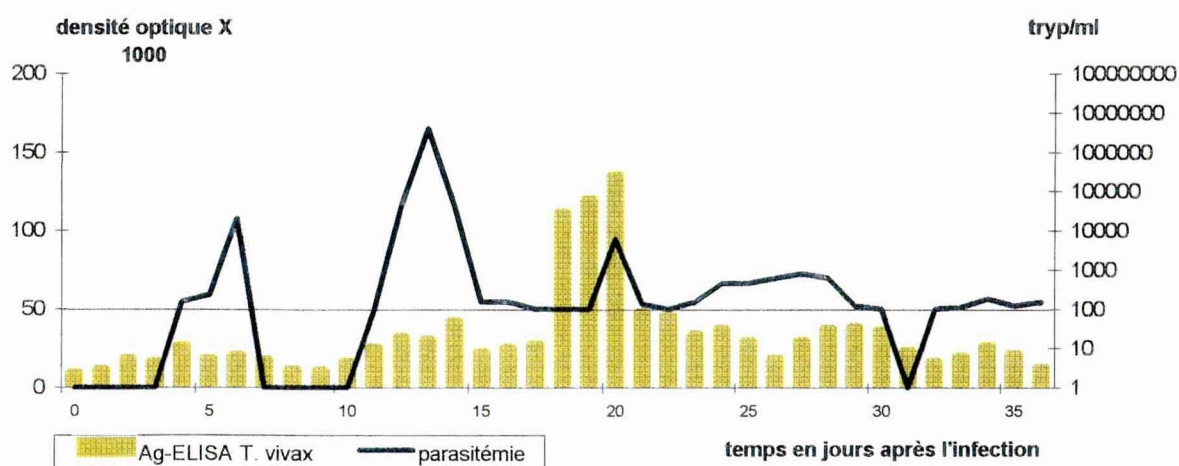


Figure 28 c : Ag-ELISA *T. vivax*

**Légende :** le seuil de positivité des tests, fixé à 50 DO pour les Ag-ELISA, est représenté par une barre horizontale ; les échantillons sont positifs en Ag-ELISA quand l'histogramme de DO dépasse ce seuil.

**Figure 28 : Parasitémie et scores de densité optique aux Ag-ELISA *Trypanosoma* spp. du mouton N°2 infecté par *T. evansi***

La sensibilité de l'Ag-ELISA *T. brucei* est satisfaisante pour le diagnostic de *T. evansi*, toutefois elle ne dépasse pas celle de l'HCT; l'utilisation simultanée des deux tests a permis de détecter 84% d'échantillons positifs, elle est donc recommandable.

### 3.2.2.2 Sensibilité de l'Ag-ELISA *T. vivax*

Chez les veaux, 160 examens (40 échantillons par animal) sont réalisés pendant les 51 premiers jours d'infection ; l'HCT est positive dans 68% des cas (109/160), et l'Ag-ELISA *T. vivax* dans 3,8% (6/160) des cas.

Chez les moutons, 338 examens sont réalisés pendant les 130 et 270 premiers jours de l'infection, l'HCT est positive dans 52% des cas, et l'Ag-ELISA dans 2% des cas.

Les parasitémiés et les densités optiques en Ag-ELISA *T. vivax* des veaux sont indiquées aux **figures 29 a1, b1 c1 et d1** ; celles des moutons sont présentées dans la **publication N°5**.

Avec la souche de Guyane Française, la sensibilité de l'Ag-ELISA *T. vivax* est très faible (2 à 4%), ce qui condamne l'utilisation du test.

En 1994, lors de l'expérimentation sur les veaux à l'ILRI, notre demande de réapprovisionnement en réactifs est restée sans suite, il n'a donc pas été possible d'évaluer la sensibilité de l'Ag-ELISA *T. vivax* avec la souche de *T. vivax* du Venezuela.

### 3.2.2.3 Spécificité des Ag-ELISA

Des résultats faussement positifs ayant été obtenus à la fois sur les bovins importés de métropole, sur les bovins locaux et sur les animaux expérimentalement infectés, nous distinguerons la spécificité de genre et la spécificité d'espèce (ou de sous-genre selon les cas).

**Spécificité de genre :** Six à 10% de résultats positifs sont obtenus avec les échantillons de bovins de métropole. Parmi les *Trypanosoma* spp. du bétail, seul *T. theileri* est présent en métropole, or il n'a pas été observé de croisement entre les antigènes de *T. theileri* et les Ag-ELISA (DELAFOSSÉ *et al.*, 1995, DESQUESNES et GARDINER, 1993). Toutefois, MONZON suggère que des croisements avec *T. theileri* existent car il observe des résultats positifs avec l'Ag-ELISA *T. brucei* sur des chevaux non infectés (communication personnelle). *T. theileri* n'ayant jamais été signalé chez le cheval, nous soulignons que l'existence de croisements avec des antigènes non trypanosomiens suffit à expliquer ces résultats, et qu'en outre, un éventuel croisement avec *T. cruzi* pourrait plus probablement être à l'origine de ces observations. En conclusion, les antigènes présents dans les sérums des bovins de métropole, qui sont reconnus par les monoclonaux, sont d'origine et de nature inconnues; il ne s'agirait pas du genre *Trypanosoma*; la spécificité de genre des tests ne serait donc pas pleinement satisfaisante.

**Spécificité d'espèce :** L'origine des échantillons utilisés dans cette étude, et le bilan des résultats qu'ils ont fournis sont indiqués au **tableau XVI**.



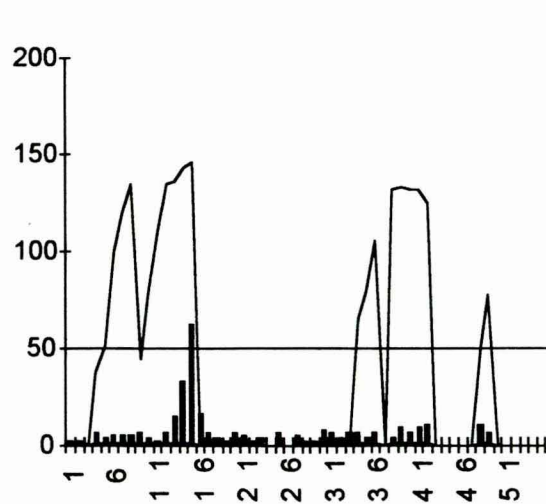


fig. a.1 : Ag-ELISA *T. vivax*

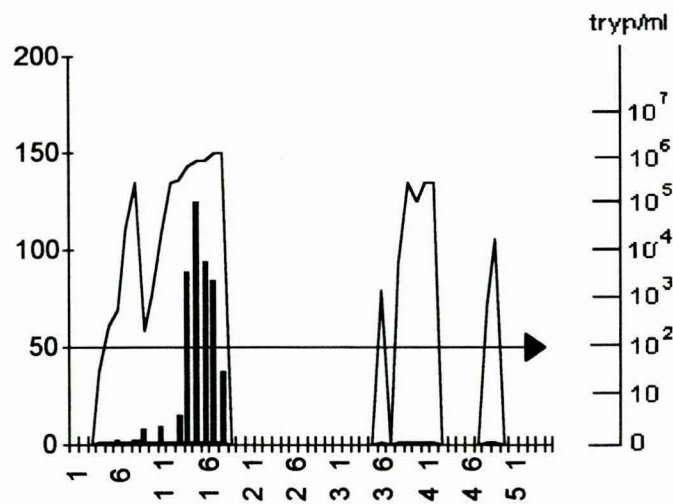


fig. b.1 : Ag-ELISA *T. vivax*

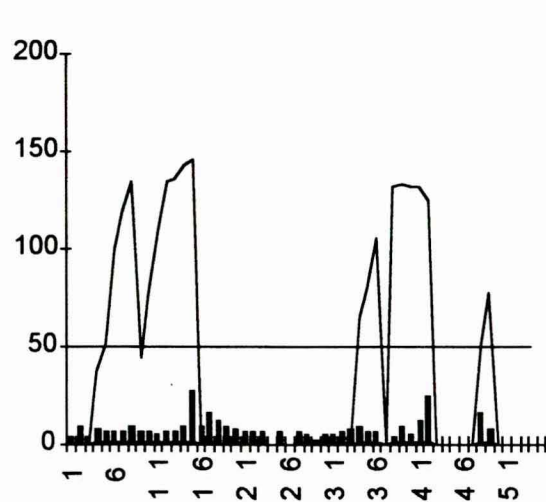


fig. a.2 : Ag-ELISA *T. brucei*

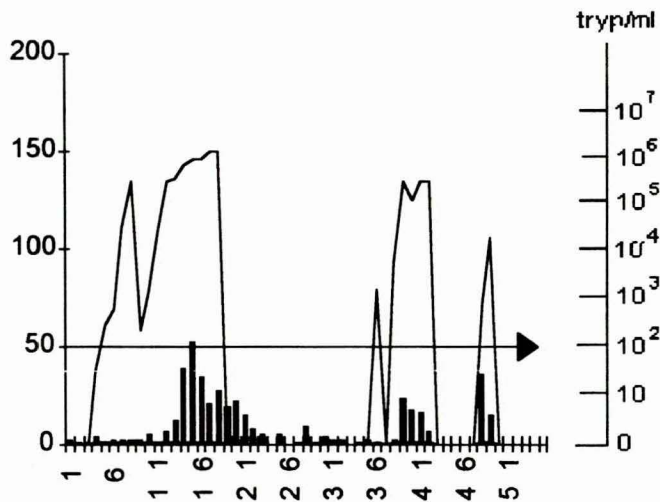


fig. b.2 : Ag-ELISA *T. brucei*

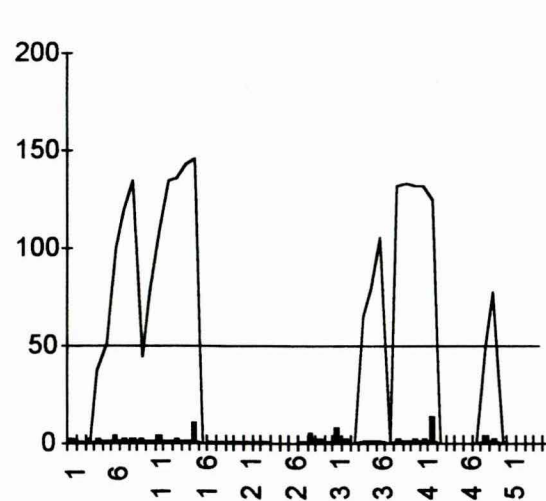


fig. a.3 : Ag-ELISA *T. congolense*

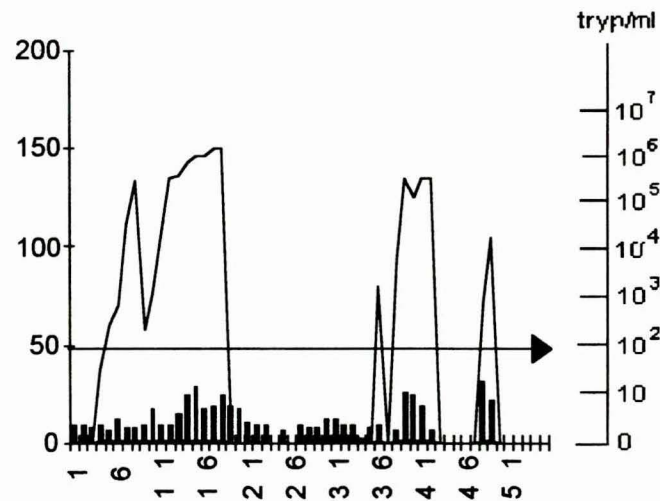


fig. b.3 : Ag-ELISA *T. congolense*

**Légende :** le seuil de positivité des Ag-ELISA est la DO 50, matérialisée par une barre horizontale

**Figure 29 a (gauche):** Veau N° 1

**Figure 29 b (droite):** veau N°2

**Figure 29 : Parasitémiées et densités optiques (DO) en Ag-ELISA *Trypanosoma* spp. de 4 veaux infectés par *T. vivax***

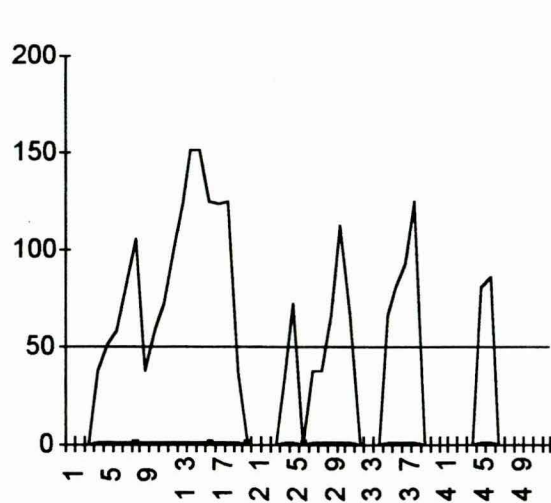


fig. c.1 : Ag-ELISA *T. vivax*

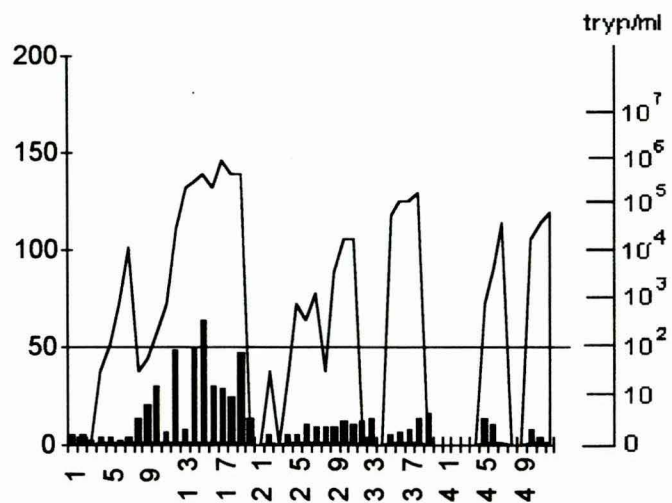


fig. d.1 : Ag-ELISA *T. vivax*

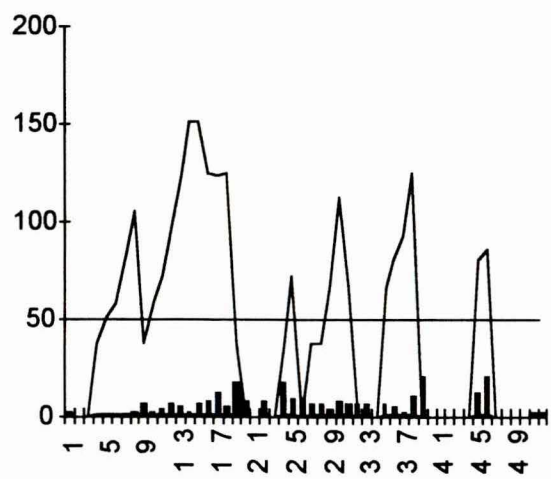


fig. c.2 : Ag-ELISA *T. brucei*

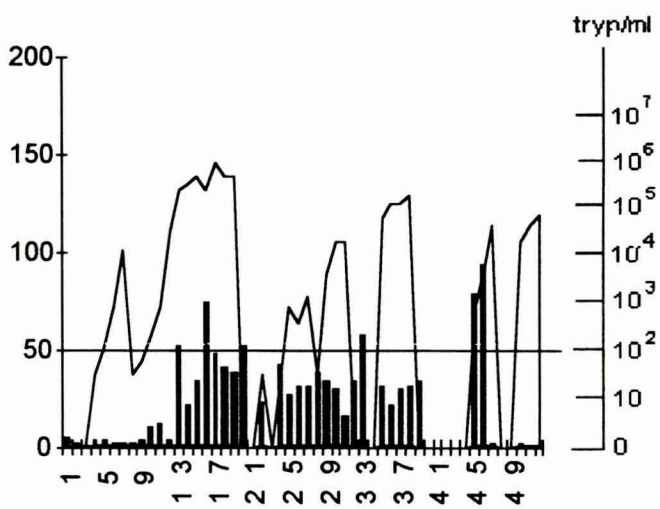


fig. d.2 : Ag-ELISA *T. brucei*

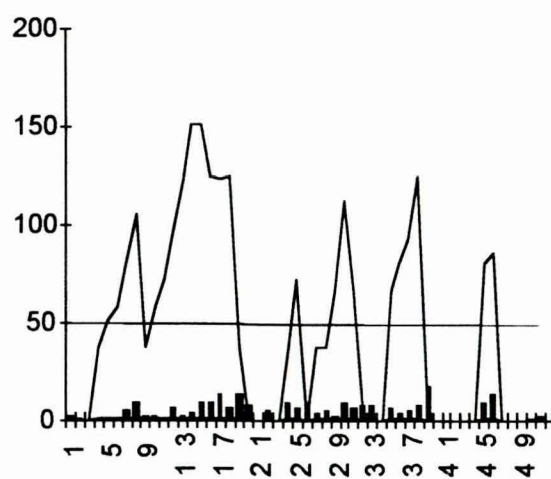


fig. c.3 : Ag-ELISA *T. congolense*

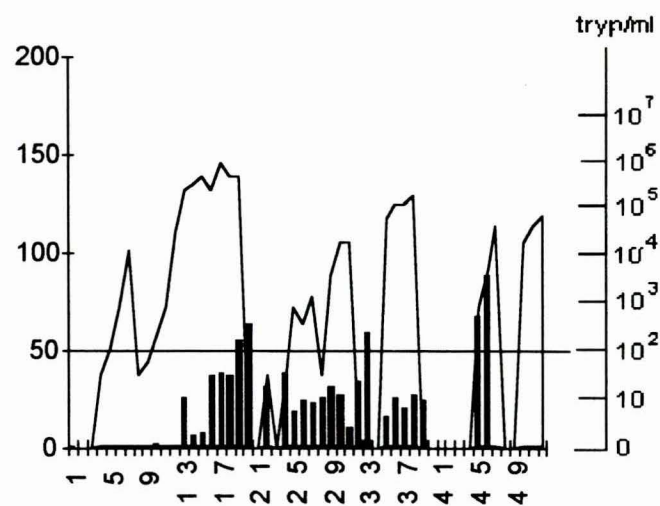


fig. d.3 : Ag-ELISA *T. congolense*

Figure 29 c (gauche): Veau N° 3

Figure 29 d (droite): veau N°4

Figure 29 : Parasitémiés et densités optiques (DO) en Ag-ELISA *Trypanosoma* sp. de 4 veaux infectés par *T. vivax* (suite)



**Tableau XVI: Echantillons testés, résultats positifs aux trois tests Ag-ELISA, et signification**

	nombre d' échantillons testés	Ag-ELISA <i>T. vivax</i>	Ag-ELISA <i>T. brucei</i> *	Ag-ELISA <i>T. congolense</i>
<b>bovins indemnes (importés de Métropole)</b>	130	8% faux positifs	6% faux positifs	10% faux positifs
<b>bovins éventuellement infectés par <i>T. vivax</i> (bétail de Guyane Française)</b>	2953	12% positifs	20% faux positifs	18% faux positifs
<b>bovins infectés par <i>T. vivax</i> de Guyane (TVFG1 ou IL4007) (infections expérimentales)</b>	160	3,8% vrais positifs	4,4% faux positifs	4,1% faux positifs
<b>moutons infectés par <i>T. vivax</i> de Guyane (TVFG1 ou IL4007) (infections expérimentales)</b>	338	2% vrais positifs	26% faux positifs	22% faux positifs
<b>moutons infectés par <i>T. evansi</i> (souche asiatique RoTat 1.2)</b>	70	4,3% faux positifs	60% vrais positifs	7,1% faux positifs

\* utilisé pour la détection des antigènes de *T. evansi*

**Infections expérimentales :** Les figures 27 et 28 illustrent les densités optiques obtenues avec les trois Ag-ELISA sur les échantillons de moutons expérimentalement infectés par *T. evansi* ; on observe des résultats positifs avec les tests de détection des antigènes de *T. vivax* et de *T. congolense*. Les figures 29 a-d illustrent les densités optiques obtenues avec les trois Ag-ELISA sur les échantillons de veaux expérimentalement infectés par *T. vivax* ; on observe des résultats positifs avec les tests de détection des antigènes de *T. brucei* et de *T. congolense*. Les résultats obtenus avec les moutons expérimentalement infectés par *T. vivax* sont présentés et illustrés dans la publication N°6. Des résultats positifs sont enregistrés à hauteur de 26% avec l'Ag-ELISA *T. brucei* et 22% avec l'Ag-ELISA *T. congolense*.

**Infections naturelles :** Sur 2953 échantillons de bovins de Guyanes Française l'Ag-ELISA *T. brucei* fournit 20% de positifs. Tous les essais d'isolement de *T. evansi* en Guyane, notamment à partir d'animaux positifs à l'Ag-ELISA *T. brucei*, sont restés infructueux. Le plus probablement des antigènes de *T. vivax* ont été détectés par l'Ag-ELISA *T. brucei*, comme cela est suggéré chez les moutons expérimentalement infectés avec le *T. vivax* de Guyane (26% de faux positifs avec l'Ag-ELISA *T. brucei*).

Sur 2953 échantillons de bovins de Guyanes Française l'Ag-ELISA *T. congolense* fourni 18% de positifs. Le plus probablement des antigènes de *T. vivax* ont été détectés par l'Ag-ELISA *T. congolense*, comme cela est suggéré chez les moutons expérimentalement infectés avec le *T. vivax* de Guyane (22% de faux positifs avec l'Ag-ELISA *T. congolense*).

La spécificité d'espèce évaluée par les infections expérimentales et naturelles est très mauvaise; l'existence de croisements antigéniques est suggérée avec les trois tests, aussi bien à partir des infections par *T. vivax* que par *T. evansi*. Les observations de laboratoire éclairent les résultats surprenants obtenus sur le terrain.

**Croisement antigénique ?** Chez les veaux infectés par IL4007, la liaison entre les vagues de parasitémie des trois tests est très apparente, comme l'illustre les figures 29 a b et d. Ces observations suggèrent l'existence d'un croisement antigénique entre espèces.

L'étude de la liaison ou corrélation entre la parasitémie et les scores de densités optiques obtenus aux trois tests a été faite chez ces 4 veaux, par le calcul de « r » et « t » selon la méthode décrite par SCHWARTZ (1963):

$$r = \frac{\sum (x-m_x) \cdot (y-m_y)}{\sqrt{\sum (x-m_x)^2 \cdot \sum (y-m_y)^2}} \quad \text{et} \quad t = \frac{r \cdot \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

Le tableau XVII indique la valeur « t » (séries appariées) des liaisons entre les variables « parasitémie » (trypanosomes/ml) et « antigénémie » (densité optique) calculées pour chaque veau, ainsi que le risque d'erreur (« re ») sur la liaison éventuelle entre les variables, ou l'absence de liaison.

Toutes les liaisons significatives sont positives (les variables varient dans le même sens).

La puissance du test statistique est très faible quand les valeurs des variables sont très faibles. Les DO fournies par les tests sont toujours voisines de zéro pour le veau N°3 (figure 29 c) (sensibilité quasi nulle de l'Ag-ELISA), on détecte donc peu de liaisons chez cet animal, ce qui n'est pas dû à l'absence de liaison mais à la nullité des valeurs de DO. En mettant de côté ces résultats, les conclusions sont les suivantes:

Les antigénémies décelées par les trois tests sont liées à la parasitémie à *T. vivax*.

Les antigénémies détectées par l'Ag-ELISA *T. vivax* sont liées à celle des Ag-ELISA *T. congolense* et *T. brucei* (veaux 1 et 2 seulement).



**Tableau XVII: Etude statistique des liaisons entre parasitémie et antigénémies de 4 veaux expérimentalement infectés par *T. vivax* (IL4007)  
valeurs de la liaison « t », et risques d'erreur « re » sur la liaison**

<b>Veau numéro</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Parasitémie /</b>	12,53	9,01	0,41	4,67
<b>Ag-ELISA <i>T. vivax</i></b>	re < 10 <sup>-9</sup>	re < 10 <sup>-9</sup>	pas de liaison	re < 10 <sup>-4</sup>
<b>Parasitémie /</b>	3,67	5,31	0,35	1,70
<b>Ag-ELISA <i>T. brucei</i></b>	re < 10 <sup>-3</sup>	re < 10 <sup>-6</sup>	pas de liaison	pas de liaison
<b>Parasitémie /</b>	2,17	3,56	0,36	1,19
<b>Ag-ELISA <i>T. congolense</i></b>	re < 0,05	re < 10 <sup>-3</sup>	pas de liaison	pas de liaison
<b>Ag-ELISA <i>T. vivax</i> /</b>	5,51	6,99	0,25	1,15
<b>Ag-ELISA <i>T. brucei</i></b>	re < 10 <sup>-7</sup>	re < 10 <sup>-9</sup>	pas de liaison	pas de liaison
<b>Ag-ELISA <i>T. vivax</i> /</b>	2,73	3,45	1,13	0,58
<b>Ag-ELISA <i>T. congolense</i></b>	re < 0,01	re < 10 <sup>-3</sup>	pas de liaison	pas de liaison
<b>Ag-ELISA <i>T. brucei</i> /</b>	4,28	10,52	10,38	14,1
<b>Ag-ELISA <i>T. congolense</i></b>	re < 10 <sup>-4</sup>	re < 10 <sup>-9</sup>	re < 10 <sup>-9</sup>	re < 10 <sup>-9</sup>

Les antigénémies détectées par l'Ag-ELISA *T. brucei* sont liées à celle de l'Ag-ELISA *T. congolense*. Les vagues antigénémiques détectées par les trois tests sont très similaires (voir **figures 29 a, b et d**), il est important de noter que chaque vague antigénémique de l'Ag-ELISA *T. vivax* est accompagnée de vagues antigénémiques des Ag-ELISA *T. brucei* et *T. congolense*, même si le seuil de positivité n'est pas toujours atteint pour l'ensemble des tests. L'hypothèse d'un croisement entre espèces est hautement probable.

Les **figures 27 et 28** reproduisant les résultats obtenus chez les moutons expérimentalement infectés par *T. evansi* permettent également d'apprécier la liaison entre les vagues antigénémiques détectées par les trois tests, et indiquent qu'une démonstration similaire des liaisons entre les tests pourrait être faite pour les infections avec *T. evansi*.

L'identification des antigènes en cause dans ces croisements devrait être faite par western-blotting en appliquant les monoclonaux sur les antigènes parasitaires. Les réactifs n'ont pu être obtenus.

### 3.2.3 Discussion

La démarche utilisée par les auteurs de l'Ag-ELISA pour l'évaluation de la spécificité et de la sensibilité des tests a été la suivante:

- 1) des anticorps monoclonaux sont produits à partir d'isolats de parasites;
- 2) la **spécificité d'espèce** des anticorps monoclonaux est démontrée *in vitro* sur des lysats parasitaires;
- 3) la **sensibilité** est évaluée au laboratoire sur animaux expérimentalement infectés avec des clones de parasites dérivés des isolats utilisés pour la fabrication des anticorps monoclonaux.
- 4) le test est utilisé sur le terrain; quand un résultat est positif l'animal est considéré comme infecté, et la sensibilité du test est comparée à celle de l'HCT.

Les antigènes présentés par un lysat parasite cultivé ou récolté à un certain stade de culture ne sont pas représentatifs de la totalité des antigènes produits par un parasite au cours de son cycle de vie, en particulier au cours de son cycle chez l'hôte; la reconnaissance *in vitro* n'est donc pas suffisante pour établir la spécificité d'espèce. D'autre part la quantité énorme d'antigènes présentés par des lysats parasitaires est en mesure de saturer le système de détection, et ne laisse aucune chance aux réactions non spécifiques, naturellement moins affines, de se dérouler.

La méthode de démonstration de la spécificité des Ag-ELISA *in vitro* n'est donc pas satisfaisante.

L'évaluation de la sensibilité des Ag-ELISA sur des clones parasitaires dérivés des isolats ayant servi à préparer les anticorps monoclonaux ne pouvait aboutir qu'à un score de sensibilité très élevé; il aurait fallu à ce stade utiliser des isolats de terrain d'origine différente.

Lors des premières utilisations sur le terrain, lorsque les Ag-ELISA ont fourni des résultats positifs quand l'HCT était négative, il aurait fallu confirmer que ces animaux étaient bien infectés, et identifier la ou les espèces en cause. Cette confirmation passe par deux étapes: d'une part la recherche d'anticorps anti-*Trypanosoma* sp., afin de confirmer que les animaux sont bien infectés par des trypanosomes et non par un autre germe, d'autre part, placer un lot d'animaux positifs sous immunodépresseurs afin de rendre visible et par là même confirmer la ou les infections détectées par les Ag-ELISA. Ce travail n'a pas été réalisé, tous les résultats positifs ont été considérés comme des preuves de la grande sensibilité des tests. Cette méthode de démonstration de la sensibilité des Ag-ELISA n'est donc pas satisfaisante.



Les résultats obtenus en Guyane Française corroborent le manque de spécificité et de sensibilité enregistrés par certains auteurs en Afrique:

- des Ag-ELISA *T. congolense* positives dans des zones indemnes de glossines (CUISANCE, 1994);
- des Ag-ELISA *T. congolense* et *T. brucei* positives, et Ag-ELISA *T. vivax* négative sur des animaux positifs en examen parasitologique pour *T. vivax* seul (KANWE *et al.*, 1992);
- des Ag-ELISA *T. vivax* négatives sur des animaux naturellement ou expérimentalement infectés par *T. vivax* (FAYE, 1993; KANWE *et al.*, 1992).

Les conclusions des évaluations faites en Guyane Française seraient donc en tout ou partie applicables en Afrique.

### 3.2.4 Conclusion

Si dans certains contextes épidémiologiques d'infections monospécifiques par *T. evansi*, il apparaît que l'Ag-ELISA *T. brucei* peut rendre des services, il est évident que dans les secteurs d'infections multispécifiques l'usage des Ag-ELISA est une source d'erreurs considérable. Il est essentiel que les utilisateurs aient présentes à l'esprit les possibilités de résultats faussement négatifs, jusqu'à 98% avec l'Ag-ELISA *T. vivax*, et faussement positifs, jusqu'à 26% avec l'Ag-ELISA *T. brucei* et 22% avec l'Ag-ELISA *T. congolense*. Les nombreuses publications et/ou diffusion de la FAO/IAEA (1993, 1994 a, b, c et d) sur la qualité, la standardisation des protocoles et les performances des kits Ag-ELISA ne doivent pas masquer les réelles faibles performances des tests.

Dans l'ensemble, notre évaluation indique des sensibilité et spécificité des trois tests fort éloignées de celles enregistrées par leurs auteurs lors de l'évaluation expérimentale sur des clones de parasites africains. Il est nécessaire de tester plus complètement les réactifs avant de les distribuer et de les utiliser en confiance sur le terrain. La réévaluation des Ag-ELISA a été décidée lors d'une réunion internationale (CTVM, IAEA, ILRI...) tenue à Nairobi en décembre 1996 (MORZARIA, communication personnelle). Etant donné les résultats qui ont été présentés, il est prévisible, sinon souhaitable, que cette réévaluation aboutisse à l'abandon des ELISA-immunocapture. En définitive, il semble que ces anticorps monoclonaux capturent d'avantage d'attention que d'antigènes spécifiques.

La détection des antigènes par ELISA restant une méthode de choix pour l'étude des trypanosomoses animales, il est souhaitable que les équipes de recherche tentent de synthétiser de nouveaux anticorps monoclonaux plus sensible et spécifiques que ceux actuellement développés par la FAO/IAEA (1993).

Dans le processus d'évaluation de nouveaux tests, à la suite des étapes de laboratoire, il est impératif de réaliser des suivis d'infections expérimentales en ayant recours à de multiples parasites issus de diverses régions géographiques, de confirmer les infections lorsque les résultats fournis par divers tests comparés sont contradictoires, et de procéder systématiquement aux épreuves hétérologues de spécificité.

Lorsque le test sous investigation apparaît plus sensible que les tests ayant fait référence jusqu'à ce jour, il est appelé à devenir le nouveau test de référence, et, par là même, le fondement de tous les travaux ultérieurs; son évaluation initiale revêt donc une importance capitale, autant sur le plan technique de l'acquisition des connaissances que sur le plan de l'éthique scientifique.

Ces travaux doivent être réalisés avant toute diffusion d'information et de réactifs en tant qu'outils de diagnostic validés. Il apparaît que les Ag-ELISA ont été largement diffusés et utilisés en Afrique, où les

examens parasitologiques et sérologiques par recherche d'anticorps risquent de passer au second plan alors qu'ils restent beaucoup plus fiables que les Ag-ELISA.

### 3.3 DOT-ELISA-ANTIGENES

De récentes publications par BOSOMPEM, ASSOKU, NANTULYA *et al.* (1996 a et b), font état du développement de nouveaux tests dot-ELISA « sensibles et spécifiques », basés sur des anticorps monoclonaux (monoclonal antibody-based dot-ELISA) et destinés à détecter les trypanosomes chez les insectes. Plusieurs systèmes sont développés dont la spécificité d'espèce est de 100% pour *T. brucei*, *T. vivax*, *T. congolense* et *T. simiae* (BOSOMPEM *et al.*, 1996 a et b).

D'après les auteurs, la concentration idéale permettant de détecter les trypanosomes avec une bonne sensibilité est de  $10^4$  trypanosomes/ $\mu$ l/dot (BOSOMPEM *et al.*, 1996 a); en termes usuels, cela représente  $10^7$  trypanosomes/ml. A cette concentration un diagnostic parasitologique classique, par examen microscopique offrirait des performances au moins égales à celles du test décrit. La sensibilité du test est donc très faible au laboratoire. En revanche, sur le terrain, la sensibilité du dot-ELISA a été plus forte que celle des examens parasitologiques (BOSOMPEM *et al.*, 1996 b). Ce paradoxe ne semble pas surprendre les auteurs.

Pour la validation de ces tests, la démarche est similaire à celle utilisée précédemment pour l'évaluation des Ag-ELISA :

- 1) la capacité des anticorps monoclonaux à détecter de manière spécifique des lysats parasitaires est utilisée pour démontrer leur spécificité (100%) au laboratoire (BOSOMPEM *et al.*, 1996 a);
- 2) sur le terrain, le test dot-ELISA donne parfois des résultats positifs alors que les trypanosomes ne peuvent être observés au microscope par dissection des glossines, il en est déduit et conclu que le dot-ELISA est plus sensible (et spécifique) que la dissection des insectes pour la détection des infections des glossines par les trypanosomes pathogènes du bétail.

L'infection réelle des glossines trouvées positives en dot-ELISA n'a jamais été démontrée. L'hypothèse de résultats faussement positifs n'est pas évoquée. La discordance entre sensibilité très faible au laboratoire et sensibilité très forte sur le terrain n'est pas relevée. Les remarques précédemment faites sur les méthodes d'évaluation des nouveaux tests devraient être également appliquées aux dot-ELISA *Trypanosoma* spp.



## 4 DIAGNOSTIC PAR PCR

Après une revue des techniques d'amplification en chaîne de l'ADN, la sensibilité de la PCR sur sérum est évaluée, et diverses techniques de préparation des échantillons sont étudiées dans le but d'améliorer la sensibilité du test pour la détection des trypanosomes chez le bétail.

### 4.1 REVUE DES TECHNIQUES

#### 4.1.1 Principes généraux de la PCR

L'amplification en chaîne de l'ADN par polymérase, plus communément appelé PCR (« polymerase chain reaction ») permet de révéler la présence de segments d'ADN ayant des séquences de bases connues, au moins en partie (HIGUCHI, 1989); cette réaction a été rendue possible par la découverte de la Taq polymérase, enzyme thermostable extraite de *Thermophilus aquaticus*, qui assure la polymérisation des acides nucléiques. La polymérisation est artificiellement obtenue en imposant des cycles thermiques à un mélange constitué d'ADN matriciel, de Taq polymérase, d'acides désoxyribonucléiques phosphate (dNTP), d'un tampon adéquat, et d'oligonucléotides spécifiques. Les cycles sont constitués d'une phase de dénaturation (94°C environ) qui provoque l'ouverture des doubles hélices de l'ADN; une phase d'appariement des oligonucléotides avec la séquence complémentaire de l'ADN matriciel (50°C environ), et une phase de polymérisation des acides nucléiques (70°C environ). Dès les premiers cycles, les produits de la polymérisation précédente servent également de matrice pour les polymérisations ultérieures. La synthèse de très nombreuses portions d'ADN identiques en séquence et en poids est obtenue en répétant une trentaine de fois le cycle thermique. Dans des conditions idéales, et en l'absence d'inhibiteurs, la détection d'une seule molécule d'ADN est possible, révélant l'extrême sensibilité potentielle de la méthode.

Le produit de la polymérisation est révélé par électrophorèse de l'ADN sur gel d'agarose, auquel est ajouté du bromure d'éthidium, agent intercalant de l'ADN, afin de visualiser l'ADN en lumière ultraviolette (ré-émission dans les couleurs orangées). Dans ces conditions on peut observer une bande d'ADN dont le poids est spécifique de la séquence d'ADN amplifiée. Il est également possible de révéler le produit de PCR à l'aide d'une sonde génomique de séquence connue, marquée avec une enzyme ou des isotopes radioactifs.

Un oligonucléotide unique, peu spécifique, peut être utilisé pour l'amplification à l'aide d'amorces arbitraires, ou « Random priming » (voir chapitre 4); l'amplification se fera alors à partir d'images partiellement en miroir des séquences de l'ADN, la séquence interne des produits amplifiés étant généralement inconnue. Dans les autres cas, on a recours à un couple d'oligonucléotides (orientés en 5'-3' et 3'-5') qui ciment une portion d'ADN dont la séquence est au moins partiellement connue.

La PCR appliquée au diagnostic, permet de révéler la présence de l'ADN d'un organisme et notamment d'un parasite. Elle est comparable aux techniques de détection des antigènes en ce sens qu'elle révèle la présence du parasite et indique une infection active. Après la mort du parasite, la persistance d'ADN libre dans la circulation de l'hôte est présumée brève, mais doit toutefois être évaluée (DESQUESNES, 1994 a). Enfin, la technique de PCR peut être utilisée indifféremment chez l'hôte ou le vecteur.

#### 4.1.2 La PCR appliquée à la détection des trypanosomes

Des oligonucléotides spécifiques de *T. vivax* (TVW1 et TVW2) et de *T. brucei* (TBR1 et TBR2) ont été décrits par MASIGA *et al.* (1992) à partir des travaux de MOSER *et al.* (1989 a) et reposent sur des messages répétitifs des ADN parasites, ce qui augmente leur sensibilité. MOSER *et al.* (1989 b) ont également décrit les oligonucléotides TCZ1 et TCZ2 pour la détection de *T. cruzi*.

Jusqu'à ce jour, aucun matériel biologique n'a mis en défaut la spécificité de ces réactifs. Pour la détection de ces parasites, l'utilisation de la PCR en l'absence de sonde ADN est donc fiable, jusqu'à preuve du contraire. Il faut toutefois noter que dans le cas de *T. cruzi*, des croisements avec *T. rangeli* sont possibles (BRENIERE *et al.*, 1993).

Ces techniques ont été utilisées pour le dépistage des trypanosomes chez les glossines ou les réduves; elles ont également été testées sur la couche leucocyto-plaquettaire de tubes à hématocrite pour le dépistage chez les bovins (MAJIWA *et al.*, 1994). Testée directement à partir de frottis sanguins pour la détection de *T. evansi*, la méthode serait plus sensible que l'inoculation aux souris (WUYTS *et al.*, 1995).

Le diagnostic des infections actives du bétail par les trypanosomes s'avère donc possible par cette méthode très spécifique, et potentiellement très sensible; PANYIM *et al.* (1993) indiquent que la détection d'un seul *T. evansi* est possible par PCR.

L'évaluation a donc été entreprise pour le diagnostic des trypanosomoses du bétail dans les Guyanes.

#### 4.2 ÉVALUATION DE LA SENSIBILITE DE LA PCR *TRYPANOSOMA* SPP. SUR SERUM

##### 4.2.1 Détection de *T. vivax*

Pour *T. vivax*, l'évaluation de la sensibilité de la PCR est réalisée avec les oligonucléotides TVW1 et TVW2 (MASIGA *et al.*, 1992). Le détail de ce travail est présenté dans la **publications N° 7 (annexe 2.6)** : « Evaluation of a simple PCR technique for the diagnosis of *Trypanosoma vivax* in the serum of cattle in comparison to parasitological techniques and antigen-enzyme linked immunosorbent assay (Ag-ELISA) », DESQUESNES (1997 a) ; les éléments déterminants seront présentés ci-après.

**Matériel et méthode :** Quatre veaux Borans sont infectés par voie intraveineuse avec  $10^4$  à  $10^5$  *T. vivax* de Guyane Française. Les animaux sont prélevés quotidiennement à la jugulaire, sur tube sec et hépariné, pendant les 51 premiers jours d'infection. L'HCT (WOO, 1970), la BCM (MURRAY *et al.*, 1977), l'Ag-ELISA *T. vivax* (NANTULYA et LINDQVIST, 1989) et la PCR (MASIGA *et al.*, 1992) sont réalisés selon les protocoles décrits par les auteurs cités en référence, à la différence près que les réactions de PCR sont menées dans un volume total de 20µl avec un volume d'échantillon de 1µl. Afin d'évaluer la persistance de l'ADN dans la circulation sanguine, lors d'un pic parasitémique ( $>10^6$ ), 2 animaux sont traités à l'acéturate de diminazène (7mg/kg en IM). Avec cette souche, le traitement n'est pas présumé stérilisant ; une résurgence des parasites est attendue.

**Résultats :** Les résultats généraux obtenus avec chaque technique pour les 4 veaux sont reproduits à la **figure 30**. L'HCT a été plus sensible (68% de positifs) que la BCM (59% de positifs), comme indiqué au §1.2. Les résultats de l'Ag-ELISA (2% de positifs) ont été commentés au §3. La sensibilité moyenne de la PCR a été de 64%, légèrement inférieure à celle de l'HCT. En général, la PCR est positive lorsque l'HCT



révèle plus de 5 parasites par tube (environ 500 à 1200 trypanosomes/ml). Chez les deux animaux ayant reçu une injection d'acéturate de diminazène lors d'un pic parasitémiq (Veau 1 et 2 respectivement à J14 et J 17), les HCT et les PCR sont négatives le lendemain du traitement, sauf dans un cas où un résultat positif est encore obtenu en PCR 24h après le traitement. Par la suite et pour les deux tests, les résultats sont négatifs jusqu'à ce que des parasitémies décelables par HCT et PCR réapparaissent (respectivement à J33 et J35).

**Discussion :** Il a été observé que l'ADN a une faible persistance dans le sang de l'hôte, et que des résultats faussement positifs dus à une telle persistance sont négligeables. Un diagnostic positif par PCR signifie donc qu'il y a une infection active. Avec la technique utilisée, la PCR n'a pas permis de déceler la persistance de l'infection après un traitement non stérilisant (veaux 1 et 2). Une technique de préparation des échantillons permettant un diagnostic plus sensible devra être explorée.

A sensibilités voisines, la PCR sur sérum présente deux avantages sur l'HCT: d'une part le diagnostic peut être réalisé sur échantillons congelés, de l'autre, il indique l'espèce en présence, ce qui n'est pas toujours possible par les examens parasitologiques. En revanche le coût de la PCR est beaucoup plus élevé, et ne pourrait être justifié que si un gain notable de sensibilité peut être obtenu. La sensibilité potentielle de la PCR étant bien supérieure à ces premiers résultats, la méthode de préparation des échantillons demande à être améliorée.

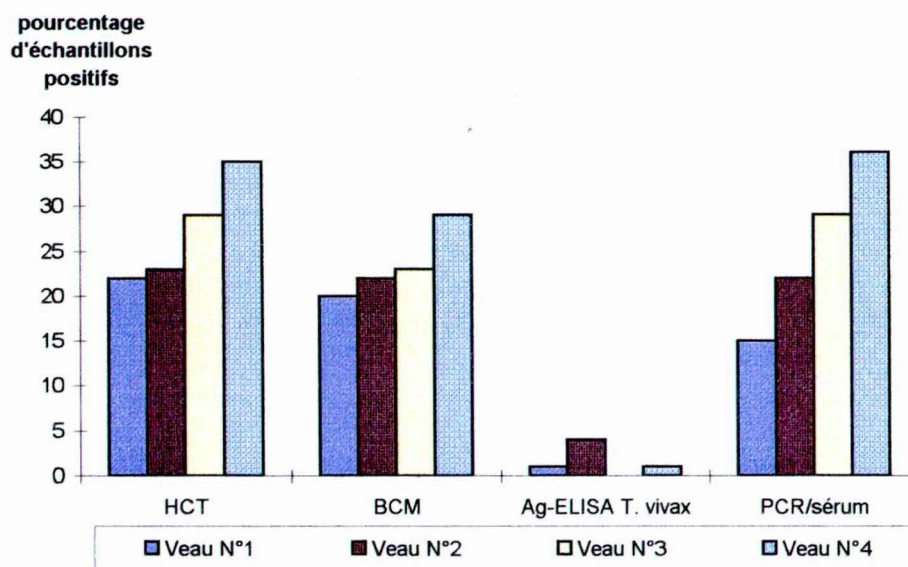
#### **4.2.2 Détection de *T. evansi***

Les travaux sont réalisés dans les mêmes conditions que précédemment, mais sur sérum de moutons expérimentalement infectés avec une souche vénézuélienne de *T. evansi* (TEVA1); deux jeux d'amorces ont été utilisés dans les conditions décrites par leurs auteurs : l'un permettant la détection de *T. brucei* et *T. evansi* (TBR1 et TBR2 décrits par MASIGA *et al.*, 1989) et l'autre spécifique de *T. evansi*, décrit par DIALLO (1993). La PCR sur sérum à l'aide des amorces de *T. brucei* a donné des résultats positifs lorsque la parasitémie était au moins égale à  $10^3$  parasites /ml. Avec les amorces de *T. evansi* les résultats n'ont été positifs que lorsque la parasitémie était supérieure à  $10^4$  parasites/ml. En Amérique Latine, l'usage des amorces de *T. brucei* est donc recommandé pour le diagnostic de *T. evansi*. La caractérisation *T. evansi* / *T. equiperdum* peut être envisagée en complément, lorsque les conditions le réclament.

### **4.3 AMELIORATION DE LA TECHNIQUE DE PREPARATION DES ECHANTILLONS SANGUINS POUR LA DETECTION DE *T. VIVAX* PAR PCR**

Les travaux sont détaillés dans la **publication N°8 (annexe 2.7)**: « Evaluation de la sensibilité de la PCR pour la détection de l'ADN de *Trypanosoma vivax* selon divers modes de préparation des échantillons sanguins », par DESQUESNES et TRESSE (1996 b); les éléments déterminants sont présentés ci-après.

**Matériel et méthode :** Plusieurs techniques de préparation des échantillons sanguins ont été éprouvées. Afin de mesurer avec précision la sensibilité des tests, du sang hépariné infecté (de parasitémie connue) a été dilué dans du sang hépariné d'animal indemne; 22 dilutions de parasitémies décroissantes, allant de 1767 à 1 *T. vivax* /ml ont été préparées sous des volumes de 5 ml.



**Légende :** pour chacun des 4 tests pratiqués : HCT (« Haematocrit centrifuge technique), BCM (« buffy coat method »), Ag-ELISA *T. vivax* (détection des antigènes de *T. vivax* par ELISA-immunocapture) et PCR sur sérum, les pourcentages de résultats positifs obtenus sur la totalité des suivis (51 jours) sont indiqués dans l'ordre de numérotation des veaux, de gauche à droite.

**Figure 30 : Pourcentages d'échantillons positifs à 4 tests de détection de l'infection par *Trypanosoma* spp. chez 4 veaux expérimentalement infectés par *T. vivax* (IL4007)**



Chacune de ces dilutions est ensuite préparée comme indiqué ci-dessous :

- 1) sang hépariné;
- 2) plasma issu d'une centrifugation à basse vitesse (1200t/min.);
- 3) couche leucocyto-plaquettaire de tubes à hématocrite (le « buffy coat » des anglo-saxons) selon la technique décrite par MAJIWA *et al.* (1994);
- 4) sang lysé, selon la technique à la saponine décrite par DIALL (1993);
- 5) culot de centrifugation de plasma; préparation originale résultant d'une centrifugation du sang hépariné à basse vitesse (1200t/min.), suivi d'une décantation des parasites par centrifugation à haute vitesse (12.000t/min.) du plasma issu de la première centrifugation ;
- 6) ADN purifié sur résine commerciale selon la technique décrite par PENCHENIER *et al.* (1996).

Après leur préparation, tous les échantillons sont conservés congelés, puis décongelés à 37°C, et passés au vortex pendant 10 secondes avant d'être pipetés et déposés dans le milieu réactionnel de PCR.

La réaction de PCR est conduite avec les oligonucléotides TVW1 et TVW2, comme indiqué par MASIGA *et al.* (1989), mis à part que le volume réactionnel est de 20µl et celui des échantillons est de 1µl. Les produits de PCR sont déposés sur des gels à 2,5% d'agarose pour l'électrophorèse.

**Résultats :** Le sang total inhibe presque toujours la réaction de PCR ;

- la réaction sur plasma et sang lysé possède une faible sensibilité (450 parasites/ml), de plus, le produit sur sang lysé présente de nombreuses bandes de poids non spécifique (**figure 31 a, colonne 5**) ;
- le buffy coat donne une meilleure sensibilité (100% jusqu'à 44 parasites/ml), mais les produits de PCR sont parfois peu visibles (**figure 31 b**) ;
- le culot de centrifugation de plasma a présenté une bonne sensibilité (100% au seuil de positivité de 9 parasites/ml) avec un produit de PCR unique et généralement bien visible (**figure 31 c**) ;
- la purification de l'ADN offre la meilleure performance de sensibilité (100% au seuil de positivité de 2 parasites/ml); toutefois, l'interprétation des résultats est parfois difficile du fait de l'existence de multiples bandes de poids non spécifique, et d'une fluorescence globale du tracé de migration du produit de PCR (« smear ») (**figure 31 d**).

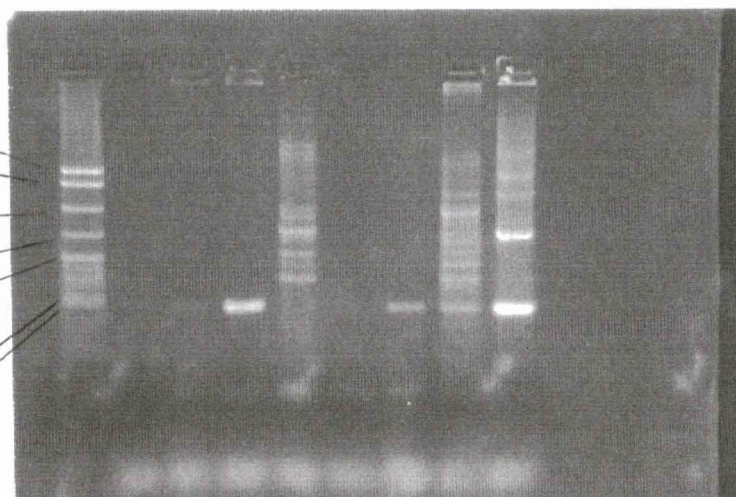
**Discussion :** Le coût de préparation et la sensibilité obtenue avec chaque type de préparation des échantillons sont présentés au **tableau XVIII**. La purification d'ADN est la technique la plus sensible, mais elle est un peu plus longue et nettement plus coûteuse, puisqu'elle procède de l'utilisation d'une résine commerciale et de plusieurs manipulations ; de plus, la grande disponibilité de l'ADN purifié engendre la présence de nombreux produits de poids non spécifique qui interfèrent dans la lecture du résultat.

Le culot de centrifugation de plasma est une préparation originale, rapide et économique, qui apparaît comme le mode de préparation à la PCR de *T. vivax* ayant le meilleur rapport coût / sensibilité ; il est donc recommandé pour les études épidémiologiques ou le diagnostic médical.

Des travaux similaires pourront être réalisés avec les autres *Trypanosoma* spp. du bétail ou de l'homme. Très probablement, la technique du culot de centrifugation sera satisfaisante avec les *Trypanozoon*, compte tenu de leur grande taille et de leur large membrane ondulante qui favorisent l'enrichissement par centrifugation différentielle, mais ne le sera pas avec les *Nannomonas* dont la petite taille ne permet pas une bonne séparation des cellules sanguines par centrifugation.

empreinte  
du  
marqueur  
PBR 322 :

-622  
-527  
-404  
-309  
-238  
-217  
-201  
-190  
-180  
-160  
-147



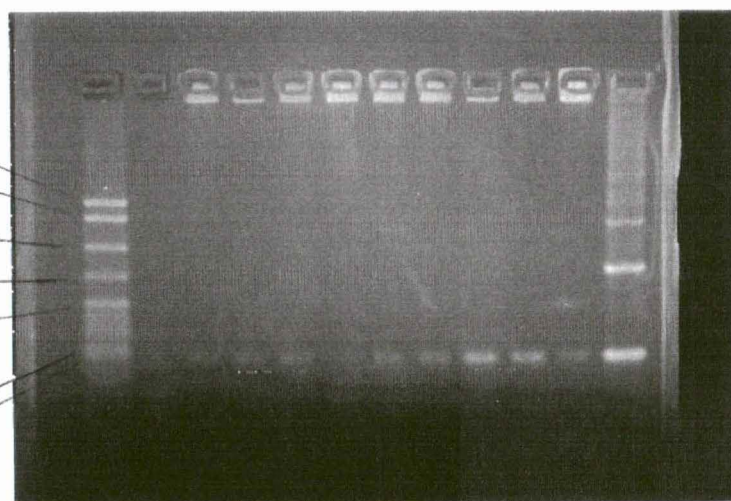
**Figure 31 a : Comparaison des produits obtenus avec les diverses techniques de préparation**

**Légende** : nature des échantillons par colonne (C) de gauche à droite :

C1 : marqueur moléculaire PBR 322 ; C2 : témoin négatif ; de C3 à C8 : échantillons de parasitémie 600 *T. vivax* /ml ; C3 : plasma ; C4 : culot de plasma ; C5 : sang lysé ; C6 : sang hépariné ; C7 : « buffy coat » ; C8 : ADN purifié ; C9 : témoin positif (plasma à  $2.10^6$  *T. vivax*/ml).

empreinte  
du  
marqueur  
PBR 322 :

-622  
-527  
-404  
-309  
-238  
-217  
-201  
-190  
-180  
-160  
-147



**Figure 31 b : Produits de PCR obtenus sur « buffy coat »**

**Légende** : nature des échantillons par colonne (C) de gauche à droite :

C1 : marqueur moléculaire PBR 322 ; C2 : témoin négatif ; de C3 à C11 : échantillons de « buffy coat » avec des parasitémies à *T. vivax* de: 18, 26, 35, 44, 57, 71, 88, 177 et 265 ; C12 : témoin positif (plasma à  $2.10^6$  *T. vivax*/ml).

**Figure 31: Gels d'électrophorèse obtenus par PCR (amorces TVW1 et TVW2) avec plusieurs types de préparation des échantillons, et diverses parasitémies à *T. vivax***



empreinte  
du  
marqueur  
PBR 322 :

-622

-527

-404

-309

-238

-217

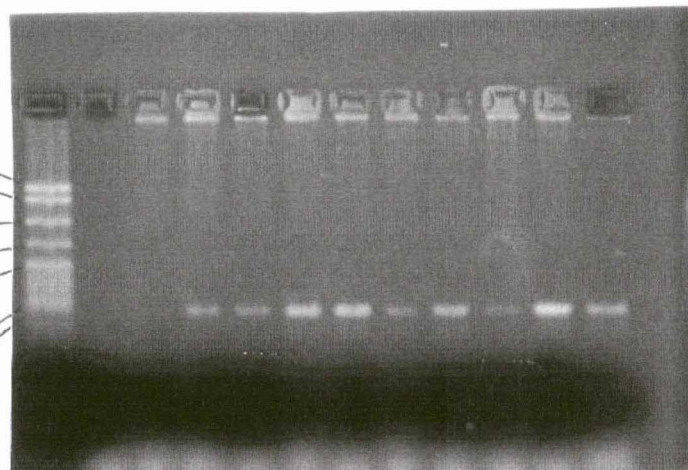
-201

-190

-180

-160

-147



**Figure 31 c : Produits de PCR obtenus avec des culots de plasma**

**Légende :** nature des échantillons par colonne (C) de gauche à droite :

C1 : marqueur moléculaire PBR 322 ; C2 : témoin négatif ; de C3 à C11 : échantillons de culot de centrifugation de plasma avec des parasitémiés à *T. vivax* de 1, 2, 4, 7, 9, 13, 18, 26, et 35 ; C12 : témoin positif (plasma à  $2.10^6$  *T. vivax*/ml).

empreinte  
du  
marqueur  
PBR 322 :

-622

-527

-404

-309

-238

-217

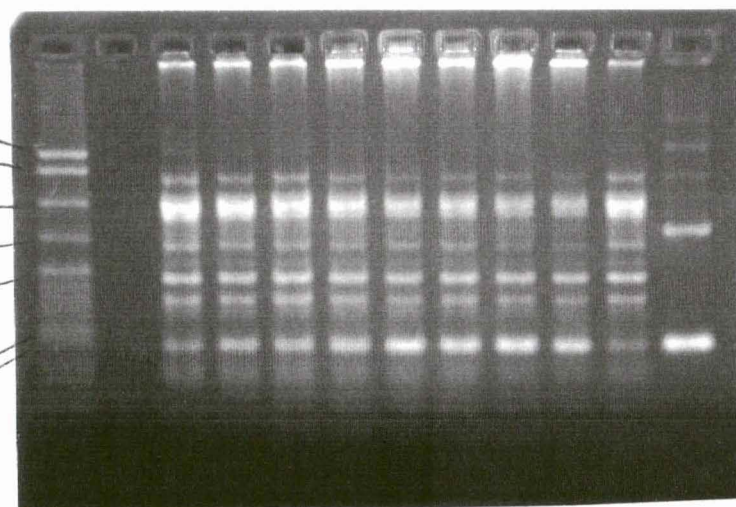
-201

-190

-180

-160

-147



**Figure 31 d : Produits de PCR obtenus avec l'ADN purifié**

**Légende :** nature des échantillons par colonne (C) de gauche à droite :

C1 : marqueur moléculaire PBR 322 ; C2 : témoin négatif ; de C3 à C11 : échantillons d'ADN purifié avec des parasitémiés à *T. vivax* de: 9, 13, 18, 26, 35, 44, 57, 71, et 88 ; C12 : témoin positif (plasma à  $2.10^6$  *T. vivax*/ml).

**Figure 31: Gels d'électrophorèse obtenus par PCR (amorces TVW1 et TVW2) avec plusieurs types de préparation des échantillons, et diverses parasitémiés à *T. vivax* (suite)**

**Tableau XVIII : Sensibilité et coût de diverses techniques de préparation des échantillons pour la PCR**

Sensibilité au seuil de (en trypanosomes/ml)	Types de préparation des échantillons				
	plasma	culot de plasma	sang lysé	buffy coat	ADN purifié
<b>442 +/- 60</b>	94%	100%	100%	100%	100%
<b>44 +/- 6</b>	64%	100%	67%	100%	100%
<b>9 +/- 1,3</b>	57%	98%	50%	85%	100%
<b>2 +/- 0,3</b>	49%	90%	43%	73%	100%
<b>coût de la préparation*</b>	0,75FF	0,90FF	1,85FF	1,75FF	6,35FF
<b>temps de manipulation</b>	1 min.	3 min.	6 min.	3 min.	4 min.
<b>temps d'attente cumulés</b>	10 min.	25 min.	75 min.	5 min.	44 min.

\*ce coût n'inclut que la préparation des échantillons, pour calculer le coût total du diagnostic il faut ajouter celui de la PCR, soit environ 3FF par réaction.

*Remarque : les caractéristiques de la réaction sur sang hépariné ne sont pas indiquées car insuffisamment sensibles.*

## 5 CONCLUSIONS SUR LE DIAGNOSTIC DES TRYPANOSOMOSES EN AMERIQUE LATINE

Le diagnostic des trypanosomoses pose des problèmes de sensibilité et de spécificité qui varient selon les parasites potentiellement présents dans la zone géographique étudiée.

Les trypanosomes que l'on peut rencontrer en Amérique Latine ont été indiqués au regard de leurs hôtes au **tableau I** (chapitre premier). Dans chacune des espèces hôtes, les investigations cliniques, diagnostiques et épidémiologiques, doivent prendre en considération la présence éventuelle des *Trypanosoma* spp. indiquées. L'étude, en ELISA-indirecte *T. evansi*, des réponses sérologiques chez l'homme infecté par *T. cruzi* confirme les communautés antigéniques entre *T. cruzi* et *T. evansi*. De même, les ELISA-indirecte *T. evansi* et *T. vivax* réalisées chez des moutons infectés par *T. evansi* ou *T. vivax* confirme les communautés antigéniques entre ces parasites.

Il a été démontré que les ELISA-immunocapture *Trypanosoma* spp. mises au point en Afrique sont inutilisables en Amérique, et que les caractéristiques du CATT test *T. evansi*<sup>ND</sup> et de l'ELISA-indirecte *T. vivax* pour la recherche des IgM sont peu satisfaisantes.



En revanche, la recherche des IgG par ELISA-indirectes *T. vivax* ou *T. evansi* sont très satisfaisantes, autant sur le plan de la sensibilité que sur la spécificité de genre *Trypanosoma* spp. pathogènes. La connaissance de l'évolution de la réponse quantitative des échantillons au cours de l'infection permet le plus souvent de déduire si l'infection est active ou ancienne. Les ELISA-indirectes permettent donc d'établir le statut immunologique des animaux, voire leur statut infectieux. L'utilisation de l'ELISA-indirecte *T. evansi* pour la détection des infections par *T. vivax* chez les ruminants est possible, avec une sensibilité égale au système homologue. La réalisation simultanée des deux tests (ELISA-indirectes *T. vivax* et *T. evansi*) peut dans certains cas apporter des réponses spécifiques. La spécificité d'espèce reste toutefois un problème majeur dans certains contextes épidémiologiques d'infections potentiellement multiples.

La technique de préparation des échantillon pour la PCR qui a été mise au point (culot de plasma) fournit un diagnostic sensible et spécifique qui pourra compléter les outils précédents.

Chez les animaux de rente, l'interférence de *T. cruzi* est probablement faible, mais n'a jamais véritablement pu être estimée à défaut de test le permettant.

**Pour le diagnostic individuel** des trypanosomoses, quelle que soit l'espèce, il est recommandé d'utiliser:

- l'HCT, associée à la BCM et au frottis coloré quand l'HCT est positive;
- la sérologie anticorps (ELISA-indirecte ou IFI) sur antigène homologue;
- la PCR sur culot de centrifugation de plasma ou sur ADN purifié, avec les oligonucléotides adaptés selon le parasite recherché: TVW1 et TVW2 pour *T. vivax*, TBR1 et TBR2 pour *T. evansi* et *T. equiperdum*, et TCZ1 et TCZ2 (MOSER *et al.*, 1989 b) pour *T. cruzi*.

A ces examens peuvent s'ajouter l'inoculation aux souris pour *T. evansi*, voire la culture *in vitro* si l'objectif est d'isoler une souche parasitaire de *T. evansi* ou *T. equiperdum* (BALTZ *et al.*, 1985).

**Pour les études épidémiologiques**, il est recommandé d'associer à l'ELISA-indirecte un diagnostic parasitologique ou par PCR. La spécificité des réactifs devant être définie selon les objectifs de l'utilisateur; par exemple, un sondage à l'aide de l'ELISA-indirecte *T. evansi* peut être complété, pour les échantillons positifs, par une recherche sur un autre antigène, plus spécifique du parasite recherché (*T. cruzi* ou *T. vivax* par exemple).

Ces travaux ont parallèlement amené à la mise au point d'une ELISA-indirecte *T. evansi* pour la détection des infections à *T. cruzi* chez l'homme (DESQUESNES et TRESSE, 1997), montrant de la sorte que si les communautés antigéniques entre trypanosomes peuvent interférer dans les diagnostics, elles peuvent également être mises à profit dans certaines conditions.

L'élaboration de tests ELISA sensibles, et spécifiques d'espèces, pour la recherche des antigènes et des anticorps doit rester une priorité de la recherche en matière de diagnostic des trypanosomoses du bétail. La collaboration entre organismes de recherche de divers pays du continent est nécessaire est souhaitable devant l'ambition de tels projets.

\* \* \*

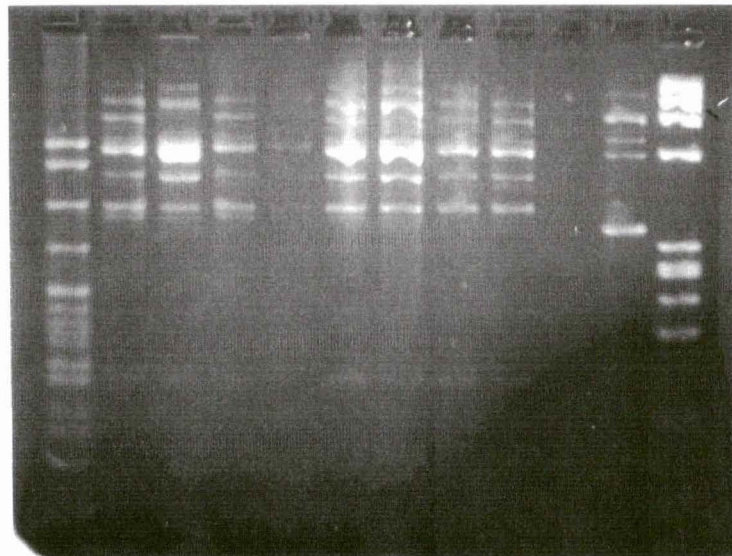






CHAPITRE QUATRIÈME :

**DÉBUT DE CARACTÉRISATION DES SOUCHES DE  
*T. VIVAX* ET *T. EVANSI* DU VENEZUELA  
ET DE GUYANE FRANCAISE**



## INTRODUCTION

De nombreuses techniques de caractérisation ont été appliquées aux trypanosomes, parmi lesquelles:

- l'étude de la morphologie des parasites (HOARE, 1972) ;
- l'étude de la pathogénicité selon l'espèce hôte (MESNIL *et al.*, 1938);
- l'infectivité pour les glossines (ROUBAUD *et al.*, 1938, HULL 1971; DIRIE *et al.* 1991 et 1993 b), les souris (GATHUO *et al.*, 1987; DIRIE *et al.*, 1993 b), les cobayes (FABRE, 1929), etc.;
- la sensibilité à divers trypanocides (FINELLE, 1973), *in vivo* (TORO *et al.*, 1983 b; ZHANG *et al.*, 1992) et *in vitro* (KAMINSKY 1990; KAMINSKY *et al.*, 1989 et 1990);
- les analyses isoenzymatiques qui ont pendant longtemps dominé les techniques de caractérisation intra- et inter-espèces (BAGSTER et PARR, 1973 ; KILGOUR et GODFREY, 1973, 1977 ; PARR *et al.*, 1974 ; KILGOUR *et al.*, 1975 ; GIBSON *et al.*, 1980 ; MURRAY, 1982; ALLSOPP et NEWTON, 1985 ; STEVENS *et al.*, 1989; AL-TAQI, 1989 ; FASOGBON *et al.*, 1990; DIRIE *et al.*, 1993 b);
- la migration des chromosomes en champ pulsé (VAN DER PLOEG *et al.*, 1984; MASAKE *et al.*, 1988);
- les tests d'immunité croisée *in vitro*: test d'immuno-lyse (BARRY et GATHUO, 1984), immuno-électrophorèse croisée (MURRAY et CLARKSON, 1982);
- les tests de protection croisée passive (MURRAY et CLARKSON, 1982) ou active (DIRIE *et al.*, 1993 b);
- plus récemment, la caractérisation du matériel génomique à l'aide d'enzymes de restriction, plus connu sous sa dénomination anglaise: restriction fragment length polymorphism, ou RFLP (ZHANG et BALTZ, 1994);
- la caractérisation de l'ADN par étude des profils fournis par une PCR à l'aide d'amorces arbitraires (« random-primers » ou « arbitrary-primers ») (WAITUMBI et MURPHY, 1993; DIRIE *et al.*, 1993 a);
- l'utilisation de sondes d'ADN nucléaire spécifiques (ZHANG et BALTZ, 1994 ; GIBSON *et al.*, 1988), ou de sondes kinétoplastiques (STURM *et al.*, 1989 ; MASIGA et GIBSON, 1990);
- les analyses du génome par séquençage de l'ADN nucléaire et/ou kinétoplastique (BAJYANA SONGA *et al.*, 1990 ; ARTAMA *et al.*, 1992).

Ces analyses, souvent longues et coûteuses, présentent des intérêts fondamentaux incontestables; selon les cas elles permettent de réaliser des études phylogénétiques des parasites, de déterminer leur mode de reproduction (clonalité (TIBAYRENC et AYALA, 1987), conjugaison (GIBSON, 1989), etc.), de caractériser certains aspects de leur pathogénicité (souches apathogènes, hémolytiques, etc.), de leur spécificité d'espèce hôte, de leur sensibilité aux trypanocides, de leurs communautés ou de leurs diversités antigénique et immunologique, etc. Toutefois, l'étude de la résistance aux trypanocides mise à part, ces analyses ont, jusqu'à ce jour, rarement débouché sur des mesures ou des applications pratiques.

Les techniques de caractérisation requièrent généralement de grandes quantités de parasites; les travaux sont donc limités pour *T. vivax* du fait qu'il est très difficile de le cultiver *in vitro* ou de l'adapter aux rongeurs; sa production sur ruminant présente d'importants écueils, notamment la qualité de la séparation des parasites des cellules sanguines (DIRIE *et al.*, 1993 a). Des techniques de PCR, ne requérant que de faibles quantités de parasites, sont donc bien adaptées à la caractérisation de *T. vivax*.



# 1 REVUE DE LA CARACTERISATION DES SOUCHES SUD-AMERICAINES DE *T. VIVAX* ET *T. EVANSI*

## 1.1 *T. VIVAX*

Les premiers travaux de caractérisation réalisés sur des souches de *T. vivax* de Guyane Française sont ceux de LEGER et VIENNE (1919), qui décrivent la pathogénicité de la souche et ses mensurations. Par la suite, FABRE (1929) indique que le *T. vivax* des Antilles ne se cultive pas sur cobaye. ROUBAUD *et al.* (1938) et HULL (1971) ont montré que les *T. vivax* d'Amérique du sud et des Antilles étaient incapables d'infecter les glossines. Une étude complémentaire de la pathogénicité du *T. vivax* de Guyane chez le zébu a été réalisée par CAMUS et MARTENCHAR (1990). En Colombie, OTTE (1989) avait enregistré des résistances de *T. vivax* au chlorure d'isométymidium. Les analyses isoenzymatiques de souches nigérienne et colombienne menées par MURRAY (1982) avaient révélé des profils identiques.

En Afrique, pour la caractérisation de *T. vivax* on distingue généralement les souches est-africaines et ouest-africaines (FAGOBSON *et al.*, 1990). DIRIE *et al.* (1993 b) ont comparé aux souches africaines 4 souches de *T. vivax* de Colombie, avec les résultats suivants:

- les parasites ne se cultivent pas *in vitro* (technique de HIRUMI et HIRUMI, 1991), ni sur souris, et ne sont pas infectants pour les glossines;
- l'analyse isoenzymatique a révélé de fortes communautés entre les souches colombiennes et les souches ouest-africaines, mais elle permet de distinguer toutes les souches étudiées;
- de même, la sonde nucléaire décrite par DICKIN et GIBSON (1989) s'hybride parfaitement avec les parasites colombiens et ouest-africains alors qu'elle ne reconnaît pas le parasite isolé au Kenya;
- les caryotypages permettent de distinguer toutes les souches;
- les tests d'immunolyse révèlent que l'immunogénicité des parasites colombiens est inférieure à celle des parasites ouest-africains, mais que leur antigénicité est au moins partiellement commune, puisque les sérums des animaux infectés par les souches colombiennes ne lysent pas les parasites ouest-africains alors que la réciproque est vraie.
- les tests d'immunolyse et de protection croisée ont montré que les 4 souches de Colombie étaient très proches; les auteurs concluent à l'existence d'un sérotype unique ou très voisin.

## 1.2 *T. EVANSI*

Pour *T. evansi*, les mêmes méthodes sont applicables. Les caractérisations morphologiques reposant sur la présence d'un kinétoplaste ont largement été utilisées ; dans certaines régions, et/ou chez certains hôtes, on trouve des formes akinétoplastiques dans des proportions relativement stables, ce qui permettrait de distinguer des souches, voire des espèces. En mettant en relation ces deux types d'observations, MONZON et COLMAN (1988) montrent que *T. venezuelense* ne serait qu'une variété dyskinétoplastique de *T. evansi* (TEJERO et ARISPE, 1984) moins pathogène pour la mule que pour le cheval. En Argentine, le pourcentage de parasites présentant un kinétoplaste est faible, 3 à 20% dans l'étude de MONZON *et al.* (1995 b). La dyskinétoplastie peut apparaître naturellement, et, à la suite de traitements à l'acéturate de diminazène ou au phénanthridium (LOSOS, 1980). Elle est également observée chez des chiens infectés par *T. evansi*, au Brésil (STEVENS *et al.*, 1989), alors qu'elle ne l'est pas chez les

capybaras, mais les analyses isoenzymatiques ne révèlent pas de différences entre ces souches; il ne s'agirait donc que d'une variation mineure. Des comparaisons de taille des parasites ont également été effectuées (SILVA *et al.*, 1995 a).

Aucune étude comparative de la pathogénicité de diverses souches de *T. evansi* chez les ruminants n'a été publiée à notre connaissance. La pathogénicité des souches de *T. evansi* chez les bovins, ovins et caprins a été peu étudiée, toutefois, les observations chez le buffle au Viêt-Nam et au Brésil montrent une pathogénicité prononcée.

L'ensemble des travaux de caractérisation par étude isoenzymatique (BOLD, 1985 et 1988 ; STEVENS *et al.*, 1989), enzymes de restriction, PCR, sondes nucléaires (ZHANG et BALTZ, 1994), sondes kinétoplastiques (MASIGA et GIBSON, 1990), analyses par séquençage de l'ADN nucléaire et/ou kinétoplastique (ARTAMA *et al.*, 1992) et caryotypage moléculaire (LUN *et al.*, 1992) de *T. evansi*, *T. brucei* et *T. equiperdum* montrent une très grande homogénéité au sein de l'espèce *T. evansi* (BAJYANA SONGA *et al.*, 1990; OU *et al.*, 1991), et des relations étroites entre *T. evansi* d'une part, et de l'autre *T. brucei* et *T. equiperdum*.

### 1.3 CONSEQUENCES

Compte tenu de ce qui a été exposé, des facilités particulières du laboratoire de l'EMVT en Guyane, et des objectifs pratiques fixés concernant la pathogénicité et le contrôle des trypanosomes, le choix de la caractérisation des souches locales de *T. vivax* et *T. evansi* a porté sur leur capacité à croître sur souris, l'étude de leurs caractéristiques morphologiques, de leur pathogénicité et de leur immunogénicité chez le mouton, de leur résistance aux trypanocides utilisés pour la lutte contre *T. vivax*, et de leur caractérisation par techniques de PCR à l'aide d'amorces arbitraires. L'étude de la résistance des parasites aux trypanocides est reportée au chapitre suivant, consacré aux modes de lutte contre les trypanosomes.

Dans l'ensemble, l'objectif du présent travail a été d'établir puis de mettre en relation d'une part les caractéristiques de pathogénicité, d'immunogénicité et de sensibilité aux trypanocides avec de l'autre, les empreintes obtenues par PCR à l'aide d'amorces arbitraires.

Notre étude porte sur des souches isolées et conservées en azote liquide : 3 souches de *T. vivax* de Guyane Française, TVFG1 (ou IL4007), TVFG2 et TVFG3, une souche de *T. vivax* du Venezuela isolée dans l'État de Guarico (TVVG1), et une souche de *T. evansi* du Venezuela isolée dans l'État d'Apure (TEVA1), ainsi que sur des *T. evansi* de Guyane Française et du Suriname uniquement disponibles sur frottis.

## 2 CULTURE DE SOUCHES LOCALES SUR SOURIS

Nombre de techniques de caractérisation des trypanosomes sont facilitée quand la production des parasites est possible au laboratoire. La première étude a donc été consacrée aux essais de culture sur souris.

### 2.1 *T. VIVAX*

**Matériel et méthode :** Au total 30 souris de laboratoire de la souche C3H ont été utilisées.



Vingt cinq souris sont inoculées avec TVFG1 : 5 souris splénectomisées, 5 recevant des traitements immunosuppresseurs quotidiens à la cortisone (1mg de dexaméthazone, Azium<sup>ND</sup>), et 15 autres ne recevant aucun traitement particulier.

Cinq souris sont inoculées avec TVVG1, sans traitement particulier.

Tous les animaux ont été inoculés par voie intra-péritonéale (IP) avec  $10^5$  *T. vivax*, sous 0,2ml dans du sang de mouton activement infecté. Les animaux sont ensuite prélevés à la queue tous les trois jours pendant 3 semaines à l'aide d'un tube capillaire de 20µl, pour la réalisation du test de WOO.

### Résultats-discussion :

**TVFG1** : chez un animal (non splénectomisé et non traité à la cortisone), des trypanosomes ont pu être observés à J3 ( $10^4$ /ml) et J6 ( $10^3$ /ml), mais ils n'ont pu être retrouvés par la suite. Une inoculation en série a été entreprise à J3, avec 100µl de sang de cette souris à une souris non infectée, mais l'animal receveur n'a jamais été positif. Le frottis de buffy coat réalisé à J3 a permis de confirmer l'identification de *T. vivax*.

**TVVG1** : aucun résultat positif n'a été enregistré.

Ces essais ont donc permis de montrer que les souches locales de *T. vivax* ne se cultivent pas sur souris.

Une technique d'immunosuppression plus efficace pourra être essayée, en ayant recours à un traitement de 200mg/Kg de cyclophosphamide 2 à 3 jours avant l'inoculation, comme indiqué par SMITH *et al.* (1982).

## 2.2 *T. EVANSI*

La souche vénézuélienne de *T. evansi* (TEVA1) cultive parfaitement sur souris C3H. L'inoculation IP de  $10^4$  parasites engendre des parasitémies atteignant  $10^6$  dès le troisième jour après l'infection. La mortalité apparaît dès le 5<sup>ème</sup> jour après l'infection. La production de parasites pour la préparation des antigènes utilisés dans les ELISA-indirectes *T. evansi* a donc été réalisée sur souris.

# 3 MORPHOLOGIE ET MORPHOMETRIE DES *T.VIVAX* ET *T. EVANSI* LOCAUX

## 3.1 MORPHOLOGIE

### 3.1.1 *T. vivax*

Transmis mécaniquement en Amérique, *T. vivax* a perdu le polymorphisme que présentent les souches africaines; à savoir les formes grêles qui sont présentes lors de la phase croissante de la parasitémie, qui, lorsqu'elles sont reconnues par les anticorps de l'hôte, sont suivies de l'apparition de formes trapues présentant de nouveaux antigènes de surface, etc. Le *T. vivax* transmis mécaniquement est considéré comme monomorphe (FREZIL, 1994).

De fait, les parasites observés en Guyane dans les échantillons de terrain sont presque toujours des formes sanguines grêles (**figure 32 a**). Toutefois, occasionnellement sur le terrain, et souvent lors du premier pic parasitémique d'inoculations expérimentales, les parasites se présentent de manière polymorphe (**figure 32 b**). Ce polymorphisme est sans rapport avec celui décrit en Afrique, il conviendrait plutôt de parler de « pléomorphisme » car les variations observées ne semblent répondre à aucune règle. On trouve dans ces cas, sur la même préparation des formes grêles, moyennes et larges (1 à 4 µm), le plus souvent

longues (20-26µm), mais parfois courtes (15-16µm), dont l'extrémité postérieure est arrondie ou au contraire effilée, la distance du kinétoplaste à l'extrémité postérieure étant elle-même variable mais sans relation avec la forme de l'extrémité postérieure. Seule la taille du kinétoplaste semble constante dans ces observations. L'aspect pléomorphe du parasite est fugace, faisant rapidement place à un parasite monomorphe dès le deuxième pic parasitémique. Ces observations ont été systématiques lors d'infections expérimentales à partir de parasites conservés dans l'azote liquide, et occasionnelles lors d'infections à partir de parasites frais. Des observations du même type ont été signalées par GARDINER et WILSON (1987).

Il est possible que ces variations de morphologie révèlent des altérations du parasite, dues aux conditions de conservation des souches en azote et/ou à la réaction immunitaire de l'hôte; dans tous les cas ces formes disparaissent rapidement pour laisser place à un parasite monomorphe, et ne sont plus observées que lors de destructions massives des parasites par le système immunitaire. En effet, lors de forts pics parasitémiques, les suivis quotidiens permettent parfois d'observer les parasites pendant leur destruction. Dans ces cas, la parasitémie s'effondre brutalement, passant en 24h de plus de  $10^6$  à une valeur non détectable par les techniques parasitologiques. On observe alors des rosettes de trypanosomes réunissant de quelques dizaines à plus de 50 parasites qui semblent agglutinés. Ces rosettes se déplacent lentement dans les tubes capillaires, dont, avec l'habitude, la luminescence particulière révèle la destruction de très nombreux parasites; cette luminescence est probablement due à l'accumulation de « fantômes » de parasites (membranes plasmiques et flagelles des trypanosomes) au-dessus de la couche leucocytoplaquettaire. Ces rosettes de parasites sont accompagnées de quelques parasites isolés, pléomorphes, dont la vivacité est souvent réduite, ce qui leur donne un aspect délétère.

D'autre part, il n'a pas été observé de différence de morphologie entre les souches de *T. vivax* de Guyane Française et du Venezuela.

### 3.1.2 *T. evansi*

Des observations de pléomorphisme ont également été réalisées sur les souches de *T. evansi* du Venezuela récemment inoculées à des moutons, mais il n'a pas été observé de rosettes de parasites, probablement du fait des faibles scores de parasitémie. En revanche, chez les souris, même à partir de souche conservées en azote liquide, la croissance de la parasitémie est très rapide et ne s'est pas accompagnée de pléomorphisme.

La présence (**figure 33 a**) ou l'absence de kinétoplaste (**figure 33 b**) a été enregistrée sur les diverses souches étudiées.

Les *T. evansi* du Venezuela présentent environ 20% de spécimens akinétoplastiques, alors que les *T. evansi* du Suriname et de Guyane Française n'en présentent que très peu. Ces variations de morphologie observées chez *T. evansi* (dyskinétoplastie) ont déjà été décrites (WOO, 1977; GARDINER et MAHMOUD, 1990), et, bien que certains auteurs l'utilisaient encore récemment pour différencier *T. equinum* de *T. evansi* (MONZON et COLMAN, 1988), cette variation ne constitue pas une caractéristique de distinction fiable (GARDINER et MAHMOUD, 1990) ; la distinction de ces espèces n'est par ailleurs plus admise.



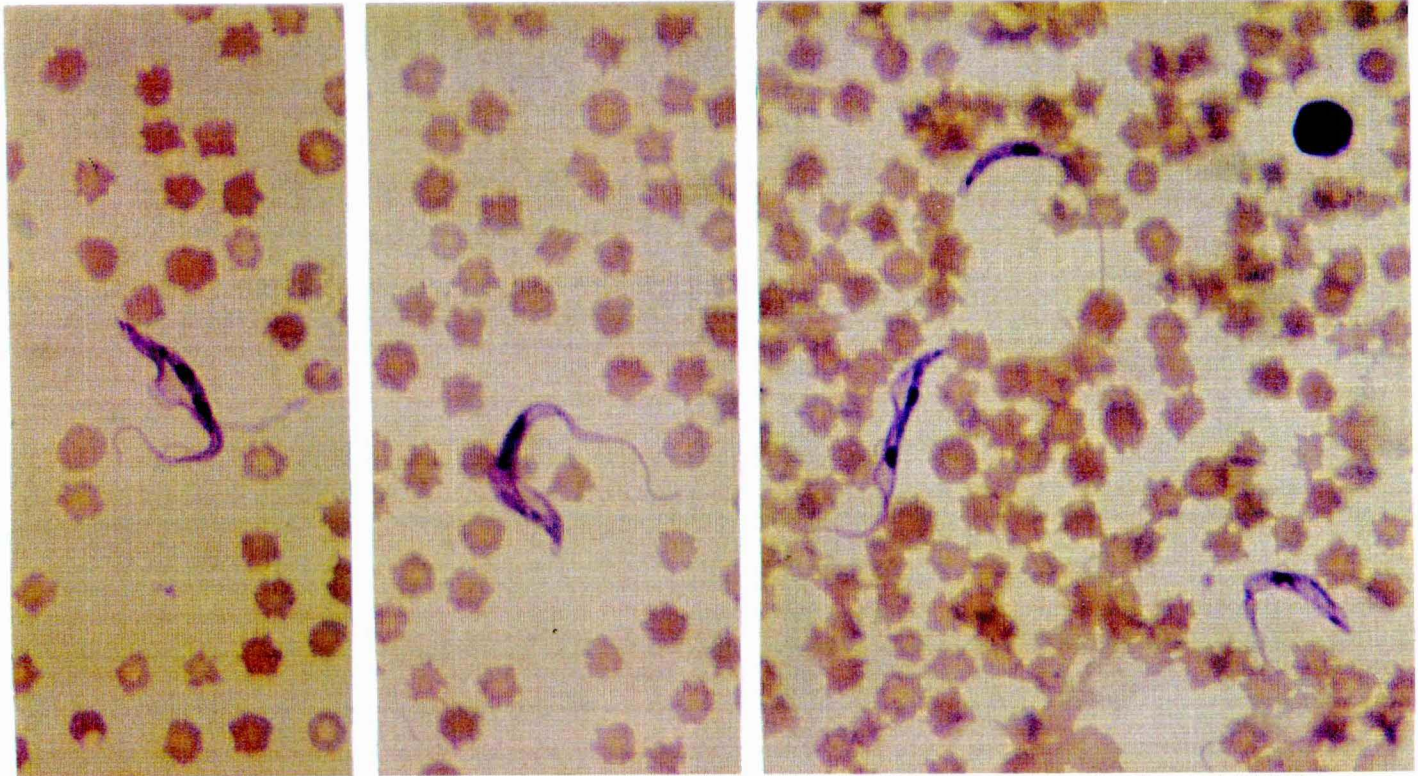


Figure 32 a : *Trypanosoma vivax* de Guyane Française, formes classiques (adultes et en division)

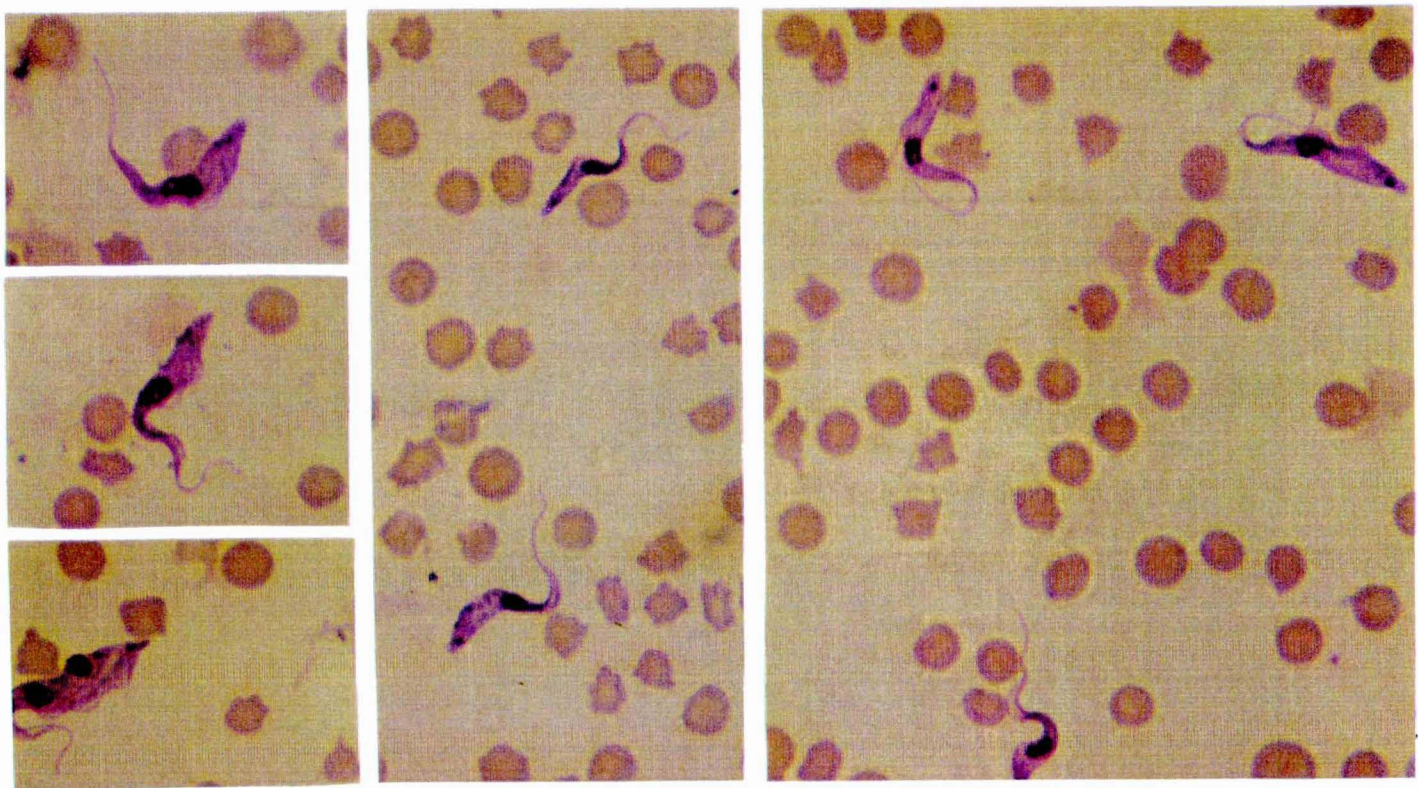
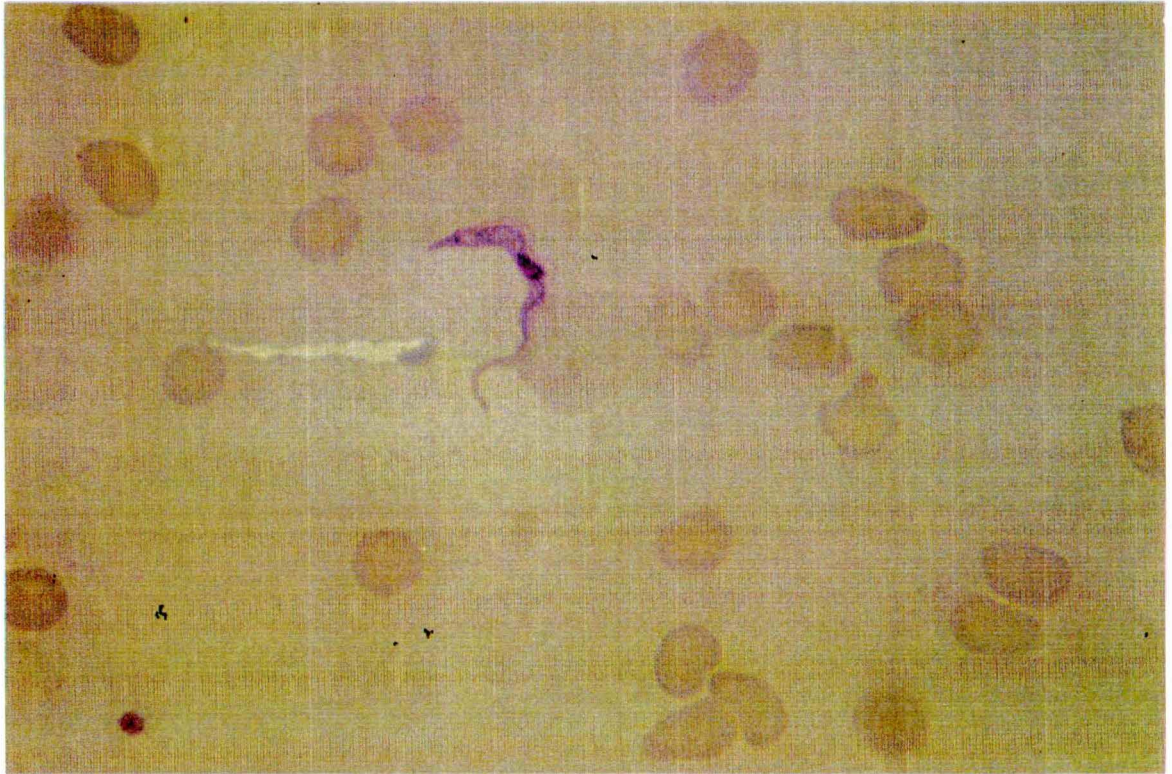


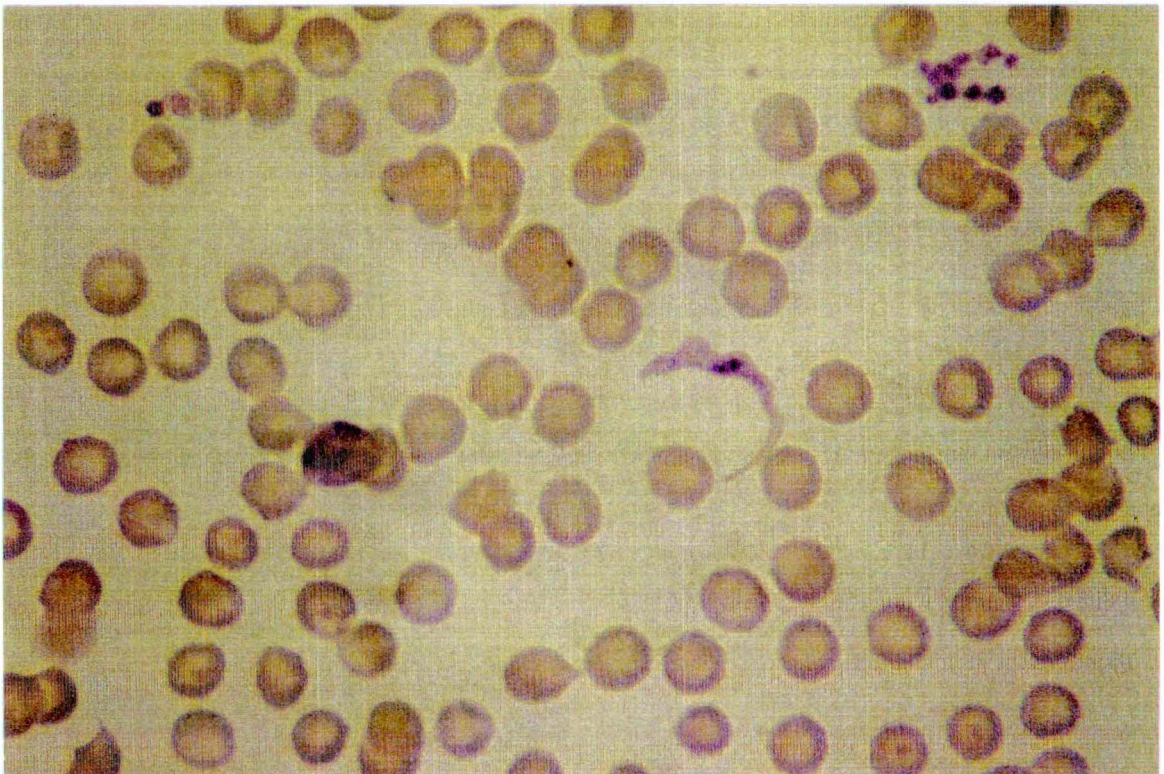
Figure 32 b : *Trypanosoma vivax* de Guyane Française, formes non classiques (adultes et en division)

Figure 32 : Morphologie de *Trypanosoma vivax* isolé en Guyane Française (TVFG1)





**Figure 33 a : *Trypanosoma evansi* du Venezuela, forme classique**



**Figure 33 b : *Trypanosoma evansi* du Venezuela, forme akinétoplastique**

**Figure 33 : Morphologie d'un *Trypanosoma evansi* isolé au Venezuela (TEVA1)**



### 3.2 MORPHOMETRIE

Les mesures des parasites ont été prises à l'aide d'un oculaire micrométrique, au grossissement X 1000, selon les indications données par HOARE (1972). Les mensurations des souches de *T. vivax* de Guyane Française et du Venezuela (cultivées sur mouton), et des souches de *T. evansi* du Venezuela (cultivées sur souris), de Guyane Française et du Suriname (échantillons sur chiens) sont indiquées au **tableau XIX**. Pour les souches affectées d'un astérisque, les mesures indiquées sont la moyenne des mesures prises sur 50 spécimens représentés sur cinq lames différentes ; pour les souches affectées de 2 astérisques, les mesures indiquées sont la moyenne des mesures prises sur 50 spécimens d'une seule lame disponible. La taille des *T. vivax* de Guyane (L = 20,3µm) et du Venezuela (21,52µm) est très voisine de celle généralement décrite dans cette espèce. Les résultats obtenus par DAVILA *et al.* (1997) sur un parasite du Brésil isolé dans le Pantanal indiquent une taille inférieure (18,73µm) sans toutefois permettre une distinction d'espèce. En revanche, le parasite bolivien (Santa Cruz) décrit par DAVILA *et al.* (1997) est nettement plus petit (15,86µm) et correspond davantage à la description de *T. uniforme* qu'à celle de *T. vivax*. La longueur totale des *T. evansi* observés dans les Guyanes est à la limite supérieur des mensurations décrites dans la littérature toutefois, le peu d'échantillons disponibles ne permet pas d'affirmer que leur taille est supérieure à celle généralement décrite. Les écarts des mensurations des diverses souches étudiées par rapport aux mesures décrites pour ces espèces sont faibles, et ne reflètent probablement que des variations temporaires dépendant plus des conditions de croissance relatives des parasites que de leurs mensurations intrinsèques. La morphologie et la morphométrie n'ont pas été retenues comme critères de caractérisation des divers isolats étudiés, mais simplement comme critères d'identification des espèces présentes localement.

**Tableau XIX : Morphométrie de diverses souches de *Trypanosoma vivax* et *T. evansi* d'Amérique du Sud étudiées en Guyane Française, ou de souches décrites dans la littérature**

	<i>T. vivax</i> HOARE (1972)	<i>T. vivax</i> Guyane LEGER & VIENNE (1919)	<i>T. vivax</i> Guyane Française TVGF1*	<i>T. vivax</i> Venezuela TVVG1*	<i>T. evansi</i> HOARE (1972)	<i>T. evansi</i> Venezuela TEVA1*	<i>T. evansi</i> Suriname** (non isolé)	<i>T. evansi</i> Guyane Française** (non isolé)
L***	(18-31) 23	(16-26) 22,5	20,3	21,52	(20-27,5) 24	26,5	27,5	28,7
PK	-	0,8	1,1	0,82	-	2,72	2,17	2,81
PN	-	6,3	7,1	6,83	-	9,58	9,83	9,27
NA	-	7,2	5,7	7,83	-	8,41	10	11,13
KN	-	5,5	6	6,02	-	6,87	7,67	6,46
K	1,1	-	1	1,15	0,6	0,55	0,6	0,64
N	-	3	2,7	3,08	-	2,7	2,83	3,12
F	3-6	6	7,5	6,86	-	8,5	7,67	8,36
IN	-	0,87	1,24	0,87	-	1,17	0,98	0,83
IK	-	1,14	1,18	1,13	-	1,39	1,28	1,43

**Légende :** L: longueur totale du parasite; K: longueur du kinétoplaste; PK: de l'extrémité postérieure au centre du kinétoplaste; N: longueur du noyau; PN: de l'extrémité postérieure au centre du noyau; F: longueur du flagelle; NA: du centre du noyau à l'extrémité antérieure; KN: du centre du kinétoplaste au centre du noyau; indice nucléaire IN = PN/NA; indice kinétoplastique IK = PN/KN

\* moyenne des mesures prises au CIRAD-EMVT sur 50 spécimens représentés sur cinq lames différentes

\*\* moyenne des mesures prises au CIRAD-EMVT sur une seule lame disponible (sang de chien).

\*\*\* en haut entre parenthèses : mesures extrêmes ; en bas, moyenne des mesures.

## 4 PATHOGENICITE DE DIVERSES SOUCHES DE *TRYPANOSOMA* SPP.

### 4.1 INFECTIONS EXPÉRIMENTALES DE MOUTONS AVEC DES SOUCHES LOCALES DE *T. VIVAX*

Afin d'étudier et comparer la pathogénicité de souches de *T. vivax* isolées en Guyane Française et au Venezuela, des infections expérimentales de moutons ont été réalisées. Les symptômes majeurs et la parasitémie ont été enregistrés quotidiennement pendant plusieurs mois. En outre, ces observations ont permis d'évaluer le rôle de réservoir du parasite chez le mouton. La pathogénicité du *T. vivax* de Guyane dans des conditions expérimentales et naturelles chez les bovins sera rappelée.

#### 4.1.1 Matériel et méthode

**Animaux :** Quinze moutons croisés Créole X Black Belly, de un à 2 ans d'âge, sont sélectionnés dans un élevage indemne de trypanosomose, et testés individuellement en HCT et ELISA-indirecte *T. vivax* et *T. evansi* ; ils sont maintenus dans des bergeries imperméables aux insectes, nourris à base de foin (*Brachiaria decumbens*) et de granulés commerciaux pour moutons. Treize d'entre eux ont été infectés par voie intraveineuse (IV) avec  $10^4$  à  $10^5$  *T. vivax* (à J0). Dans la plupart des cas le choix a porté sur des moutons mâles, mais dans certains cas des femelles gestantes ont été choisies afin d'évaluer l'impact des infections sur la gestation. Dans la mesure du possible, les animaux sont prélevés quotidiennement. Quand l'évolution de l'infection met en jeu la survie de l'animal, un traitement curatif à l'acéturate de diminazène est administré (7 mg/kg en intramusculaire).

Deux animaux non infectés (1 mâle et une femelle non gestante) servent de témoin pour l'évaluation des variations de l'hématocrite et des gains de poids. Les paramètres de chaque animal avant infection sont également utilisés.

**Souches parasitaires :** L'ensemble des souches utilisées sont conservées en azote liquide, dans une solution tampon glucosé-salé au glycérol, selon la méthode utilisée par LANCELOT (1988). Les échantillons sont plongés dans un bain à 25°C et la viabilité des parasites est contrôlée par observation directe au microscope, avant leur inoculation.

- **Un lot de 6 moutons**, 2 femelles gestantes et 4 mâles, a été infecté avec la souche de *T. vivax* isolée lors de l'épizootie de 1987 par LANCELOT (1988) en Guyane Française, baptisée TVFG1 (puis IL4007 lorsque la souche a été déposée à l'ILRI).
- **Un lot de 4 moutons**, une femelle gestante et 3 mâles, a été infecté avec la souche de *T. vivax* isolée en lors de l'épizootie de 1994 par DEMARTI et DESQUESNES (non publié) Guyane Française (TVFG2).
- **Un mouton** (femelle) a été infecté avec la souche isolée en Guyane Française en 1996 par TRESSE, GARRAIN et DESQUESNES (non publié), pendant une période post-épizootique (TVFG3).



- Un lot de 2 moutons mâles a été infecté avec une souche de *T. vivax* du Venezuela, isolée à partir de bovins dans l'état de Guarico, et aimablement adressée à notre laboratoire par le Dr E. ESPINOZA de l'UNESR<sup>18</sup> (Caracas, Venezuela); cette souche est baptisée TVVG1.

**Enregistrement des données :** Quotidiennement, la température rectale et les principaux symptômes cliniques sont enregistrés, le sang est prélevé à la jugulaire, sur héparine, pour évaluer la parasitémie (méthode décrite au chapitre 3, §1.3) et mesurer l'hématocrite. Les animaux sont pesés tous les 14 jours.

#### 4.1.2 Résultats

Quelle que soit la souche, les animaux ont présenté des symptômes globalement comparables.

**Parasitémie :** Les parasites sont détectables par HCT entre 2 et 5 jours après l'inoculation. On observe généralement deux phases d'infection, une première symptomatique et parasitémique, d'une durée de 1 à 4 mois (**figure 34 a et b**), et une seconde asymptomatique et aparasitémique, qui apparaît soit spontanément (**figure 34 d**), soit à la suite d'un traitement trypanocide non stérilisant (**figure 36 a et b**). La parasitémie est toujours très élevée dans les premières phases de l'infection, atteignant ou dépassant  $10^7$  parasites/ml, avec des fluctuations importantes, puis elle décroît régulièrement (**figure 34 d et 36 b**).

La disparition du parasite est toujours brutale, souvent concomitante d'une hyperthermie (**figure 34 a et b**) et de l'observation dans les tubes capillaires de rosettes de trypanosomes agglutinés, correspondant probablement à la réponse immunitaire de l'hôte en IgM. Le contrôle de la parasitémie est variable d'un animal à l'autre, généralement faible pour les 3 femelles gestantes, et satisfaisant après 2 à 3 mois pour les autres animaux. Certains individus sont toutefois restés très sensibles pendant plus de 4 mois (**figure 34 c**), justifiant le recours à des traitements curatifs. Aucune évolution mortelle n'a été enregistrée.

**Température:** dans les premières phases de l'infection on enregistre toujours une hyperthermie atteignant 40°C à 41°C; les pics thermiques accompagnent les pics parasitémiques. A titre d'illustration, les courbes thermiques de deux moutons infectés par TVVG1 sont présentées aux **figures 34 a et b**, où sont superposées la parasitémie et la température rectale de l'animal; pour une lecture plus facile des écarts thermiques, seuls sont représentés les degrés au-dessus de 38°C. La concordance entre pics thermiques et parasitémiques est nettement visible sur la figure.

**Hématocrite:** la chute de l'hématocrite est importante, passant fréquemment de 35% à 20%, voire 15%; en moyenne on a observé des chutes de 30 à 40% de la valeur initiale. L'effondrement de la valeur de l'hématocrite est rapide, apparaissant dans les 3 à 10 jours suivant l'infection, et durable, pendant 3 à 5 mois en l'absence de traitement ; si un traitement curatif est donné, l'hématocrite retrouve sa valeur initiale ou celle des animaux témoins en 4 à 8 semaines. L'évolution de l'hématocrite et de la parasitémie chez 2 moutons infectés par *T. vivax* est illustrée aux **figures 34 c et d**.

---

<sup>18</sup> Universidad Nacional Experimental Simon Rodriguez

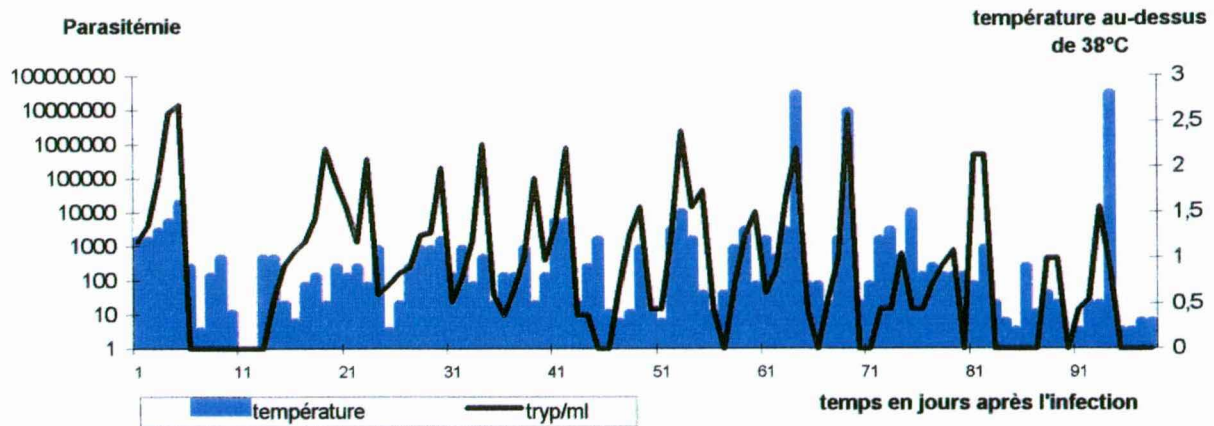


Figure 34 a : mouton infecté par TVFG1

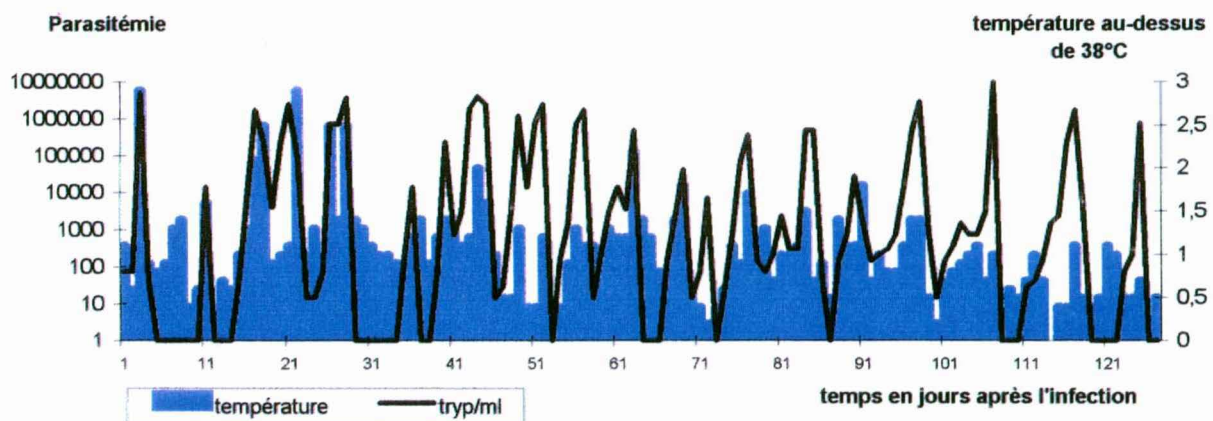


Figure 34 b : mouton infecté par TVFG1

Figure 34 a et b : Evolution de la température et de la parasitémie

Figure 34 : Evolution de la température ou de l'hématocrite et de la parasitémie au cours de l'infection par *T. vivax* chez le mouton



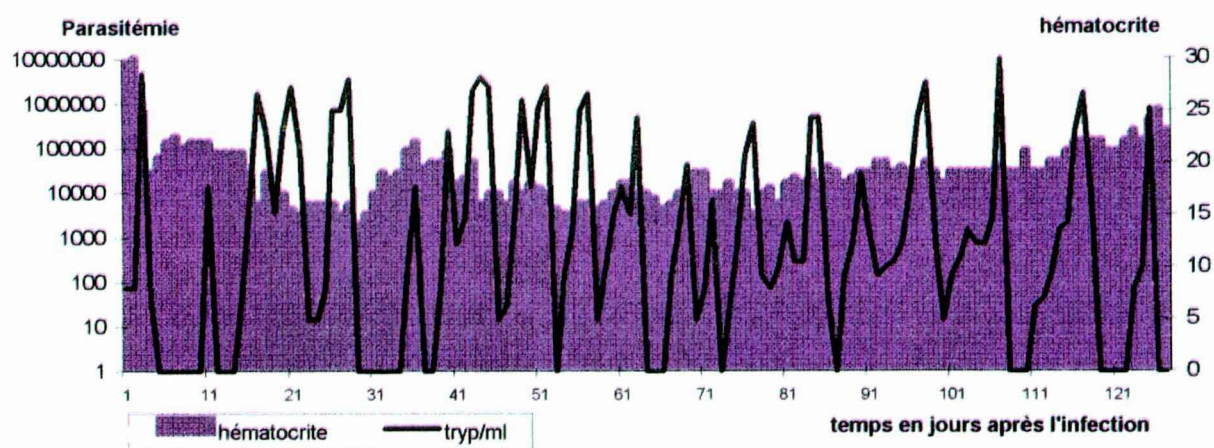


Figure 34 c : mouton infecté par TVFG1

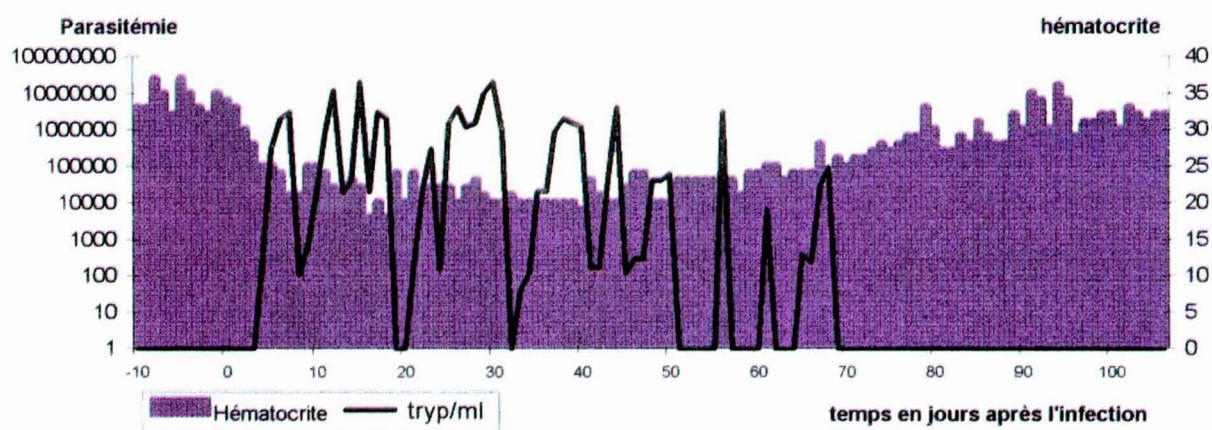
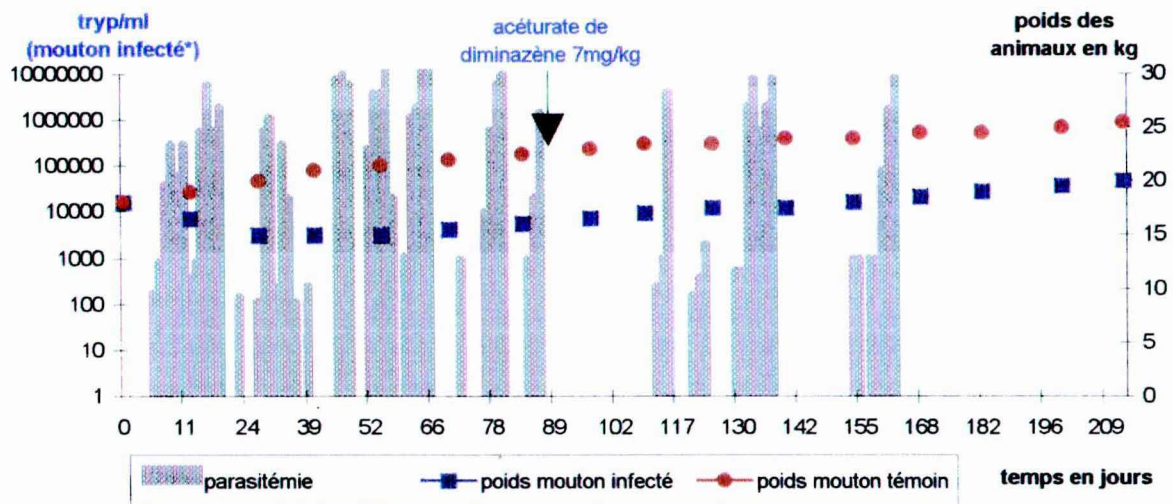


Figure 34 d : mouton infecté par TVVG1

Figure 34 c et d : Evolution de l'hématocrite et de la parasitémie

Figure 34 : Evolution de la température ou de l'hématocrite et de la parasitémie au cours de l'infection par *T. vivax* chez le mouton (suite)



**Figure 35 : Evolution du poids d'un mouton non infecté et d'un mouton infecté par TVVG1, traitement et parasitémie de l'animal infecté**

**Poids:** pendant la première phase de l'infection on enregistre des chutes de poids variables d'un animal à l'autre, allant de 5 à 30% du poids vif. Lorsqu'un animal ne parvenait pas à contrôler l'infection après 3 à 5 mois, des traitements curatifs ont été administrés; il est évident qu'en l'absence de traitement les chutes de poids se seraient aggravées, pouvant entraîner la mort. A âge égal, pendant 6 mois d'observation, les courbes pondérales de 4 moutons infectés par TVVG1 n'ont pas rattrapé celles des animaux non infectés. Pendant la seconde phase de l'infection, spontanément ou après traitement à l'acéturate de diminazène ou au chlorure d'isométydium, le retour au poids de départ s'est fait en 2 à 4 mois. A titre d'exemple, la **figure 35** indique les courbes pondérales de deux moutons mâles de 1 an d'âge; l'un n'est pas infecté et sert de témoin, l'autre est infecté par TVVG1 à J0 et reçoit un traitement à l'acéturate de diminazène (7mg/kg) à J88. Le traitement est suivi d'une disparition des parasites puis d'une résurgence, par la suite l'animal contrôle la parasitémie à partir de J 165; 6 mois après l'infection le poids du mouton infecté n'a toujours pas rejoint celui de l'animal témoin.



**Observations générales :** Les signes cliniques sont variables d'un animal à l'autre avec un même inoculum, même lorsque les animaux ont le même statut physiologique (comparaison des mâles entre eux). Les quatre souches de *T. vivax* ont toutefois présenté, en moyenne, des pathogénicités très comparables.

La première phase de l'infection s'étend sur 3 à 4 mois; les symptômes observés sont frustes: fièvre accompagnée d'hyperthermie, inappétence, larmolement, abattement, incoordination motrice passagère, ataxie, polypnée, affaiblissement et amaigrissement. Chez les femelles gestantes, sur 4 parturitions, on a observé un avortement complet (TVFG2), deux mortinatalités partielles accompagnées de très faibles lactations (TVFG1 et TVFG2), et d'une métrite (TVFG2) ; ces observations sont conformes à celles de ELHASSAN *et al.* (1995). Aucune transmission verticale n'a été observée.

Dans la deuxième phase de l'infection, l'hématocrite revient lentement à sa valeur initiale, et les symptômes disparaissent. Les trypanosomes ne sont plus détectables que lors de pics parasitémiques très faibles ( $<10^4$  parasites/ml) et fugaces; le test de WOO pouvant rester négatif pendant plusieurs mois avant de redevenir positif.

**Résurgences :** les phénomènes de résurgence des infections après des traitements aux trypanocides sont étudiés au paragraphe consacré à l'évaluation des trypanocides (chapitre 5). Signalons à ce stade de l'étude que, naturellement, ou à la suite de traitements non stérilisants, des phénomènes de portages inapparents suivis de résurgences ont été observés; les résurgences apparaissant soit spontanément (**figure 36 a**), soit à la suite d'un stress de transport de l'animal (**figure 36 b**). Dans ces cas la résurgence est fugace la parasitémie faible.

En revanche, sur 2 animaux en phase de portage inapparent (moutons 12 et 13, infectés par TVVG1), le rationnement volontaire de l'alimentation (rationnement en foin et arrêt de l'apport en granulés) a permis de recréer une situation comparable à celle parfois rencontrée dans les élevages en saison sèche (alimentation insuffisante). Dans ce cas, la réapparition des parasites dans le sang a été observée, avec des parasitémies élevées et durables, atteignant  $2 \times 10^6$  après 15 à 40 jours de rationnement (**figure 37**). Au delà du 60<sup>ème</sup> jour de rationnement, des épisodes cliniques sont réapparus (fièvre et amaigrissement prononcé).

#### 4.1.3 Discussion

La pathogénicité des souches de *T. vivax* utilisées dans cette étude est prononcée chez les moutons; on observe toutefois de grandes variations individuelles de la sensibilité chez ces animaux pourtant génétiquement très proches. Les femelles gestantes sont toujours très sensibles à l'infection pendant et au moment du part. Certains agneaux ont succombé à la prématurité ou au défaut de lactation de la mère, mais aucun n'a directement péri de trypanosomose. Quelques animaux (2/13) se sont avérés très sensibles et incapables de contrôler la parasitémie pendant plus de 5 mois ; des traitements curatifs ont alors été administrés.

Après une phase clinique de 2 à 4 mois, la plupart des animaux sont devenus porteurs asymptomatiques et aparasitémiques de *T. vivax*, ceci quelle que soit la souche utilisée. Il y aurait donc installation d'une immunité de portage.

Chez ces animaux en phase de portage inapparent, la réapparition des parasites et des signes cliniques, provoquée par des restrictions alimentaires durables, est tout à fait compatible avec la transmission par les insectes piqueurs puisque les parasitémies atteignent ou dépassent  $10^6$ .

#### **4.1.4 Conclusion**

Les 4 souches étudiées présentent des pathogénicités voisines et marquées chez le mouton, au moins pendant la première phase de l'infection. Certains animaux particulièrement sensibles n'auraient probablement pas survécu en l'absence de traitement. L'impact économique de telles infections n'est pas négligeable, d'autant que des avortements ou de la mortinatalité ont été observés à chaque gestation. Les suivis généralement très superficiels réalisés dans les élevages de moutons en Guyane ne permettent que rarement d'enregistrer et/ou d'identifier les symptômes de la trypanosomose due à *T. vivax*.

Les rôles potentiels des moutons non seulement comme hôtes sensibles, mais également comme réservoirs de la maladie ont été confirmés par ces expériences. Les résurgences à partir des animaux porteurs inapparents sont en particulier favorisées par une alimentation insuffisante. Ces éléments viennent en complément des hypothèses déjà formulées au vu des observations de terrain sur la participation du mouton dans l'épidémiologie de la trypanosomose bovine en Guyane Française.

Pour les animaux les moins sensibles, le contrôle immunologique de la parasitémie et la régression spontanée des symptômes indiquent que les souches testées possèdent un répertoire antigénique limité.

## **4.2 PATHOGENICITE CHEZ LES BOVINS**

### **4.2.1 Infections expérimentales de bovins avec une souche de *T. vivax* de Guyane**

Dans un protocole très voisin, 4 veaux BORANS d'un âge de 5 mois ont été expérimentalement infectés avec la souche IL4007 (TVFG1), présentant le même type de symptômes que ceux précédemment décrits par CAMUS et MARTRENCAR (1989); soulignons toutefois le fait qu'à partir d'inoculum identiques, les symptômes varient considérablement d'un animal à l'autre, allant d'un simple abattement passager, jusqu'à un arrêt total de l'alimentation avec décubitus permanent et signes nerveux. Dans nos expériences, lorsque, au vu des signes cliniques, une évolution fatale était probable, des traitements ont toujours été appliqués. Un animal sur 4 a ainsi nécessité un traitement. Les variations individuelles de sensibilité des hôtes qui ont été enregistrées, autant chez les veaux que chez les moutons, doivent inciter à réaliser des études génétiques des hôtes qui permettraient d'isoler des gènes de sensibilité (ou de résistance) à l'intérieur de populations dites « sensibles ».

### **4.2.2 Infections naturelles de bovins**

Les observations sur le terrain chez des génisses Salers dans un élevage de faible niveau zootechnique ont montré le fort pouvoir pathogène dans les infections naturelles de bovin indemnes (chapitre 2, §3.2.2). On ignore si dans les mêmes conditions (animaux jamais infectés au préalable élevés dans de mauvaises conditions zootechniques), les zébus sont plus résistants que les bovins européens car les observations faites n'ont pas permis une telle comparaison. A l'inverse, chez les zébus locaux, dans un élevage de bon niveau zootechnique, l'infection est inapparente. Conditions zootechniques et contrôle immunitaire de l'infection ont été clairement mis en relation, et doivent être soulignés auprès des éleveurs.



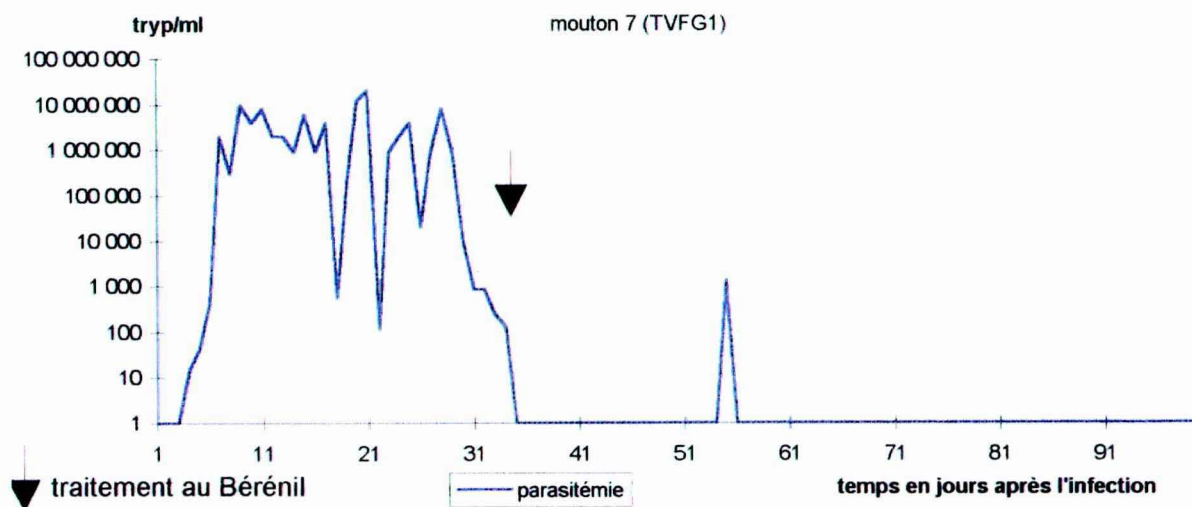


Figure 36 a : résurgence spontanée de la parasitémie à *T. vivax* chez un mouton, 3 semaines après un traitement trypanocide

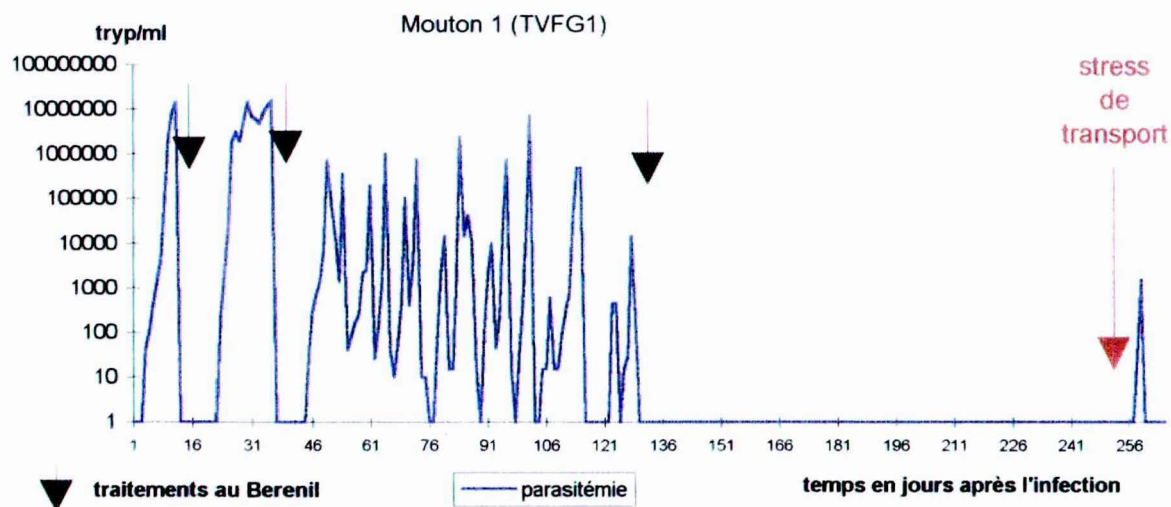


Figure 36 b : résurgence de la parasitémie à *T. vivax* après un stress de transport chez un mouton contrôlant la parasitémie depuis 160 jours

Figure 36 : Profils parasitémiques de deux moutons infectés par *T. vivax* (TVVG1), résurgences après rationnement alimentaire

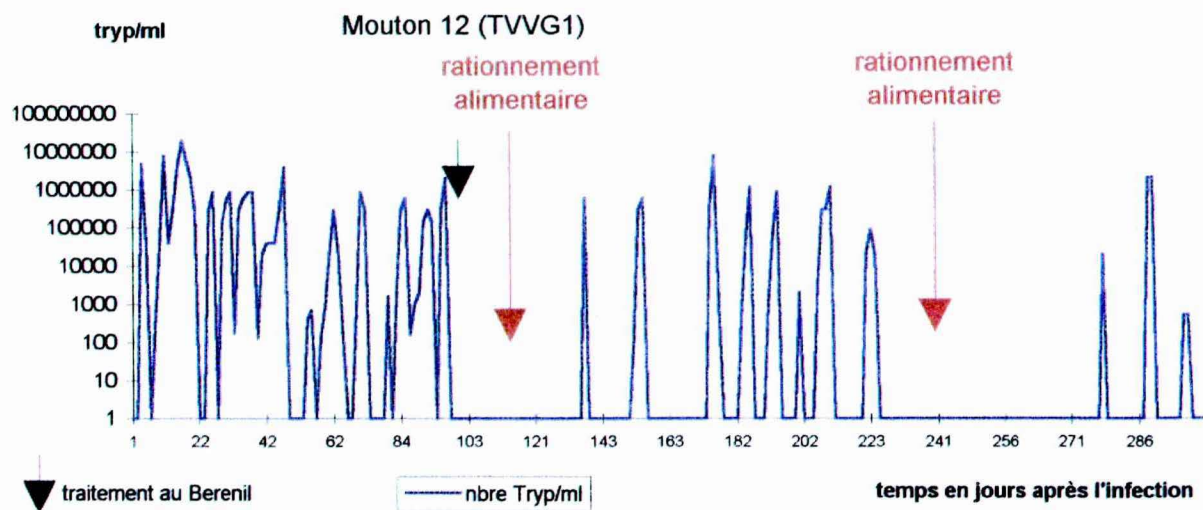


Figure 37 a : mouton N°12

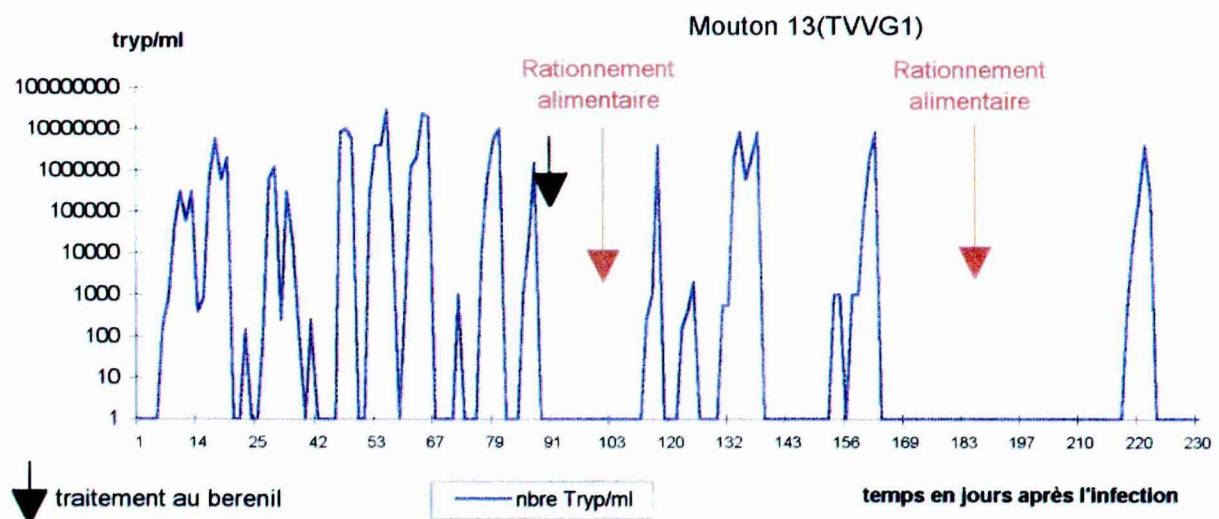


Figure 37 b : mouton N°13

Figure 37 : Profils parasitémiques de deux moutons infectés par *T. vivax* (TVVG1), résurgences après rationnement alimentaire



#### 4.3 CONCLUSION

*T. vivax* est parfois considéré comme moins pathogène que *T. congolense* (GARDINER, 1989). Quoiqu'il en soit, si certaines souches africaines de *T. vivax* sont peu pathogènes (NYARKO, 1966 et HENNING, 1949 d'après VOHRADSKY, 1971), de nombreux auteurs ont observé des évolutions cliniques grave et souvent fatales (METTAM, 1934 et 1938, et STEWART 1936, 1937 et 1938, d'après VOHRADSKY, 1971) amenant à conclure que les infections à *T. vivax* peuvent être au moins aussi grave que celles à *T. congolense* (VOHRADSKY, 1971) et provoquer de fortes mortalités (BENGALY *et al.*, 1993 ; ELHASSAN *et al.*, 1995). Une telle pathogénicité n'a pas été enregistrée en Amérique depuis les premières épizooties du début du siècle. Sur le terrain, en Afrique, les composantes nutritionnelles et multi-infectieuses participent probablement à la forte pathogénicité apparente de certaines souches. D'une manière générale, la pathogénicité des souches sud-américaines de *T. vivax* observées au laboratoire et sur le terrain apparaît moins forte que celle des souches africaines. Il conviendrait de déterminer si cette différence est liée à l'étendue du répertoire antigénique des souches. A un polymorphisme génétique élevé des souches à transmission vectorielle cyclique en Afrique, pourrait être opposé un « oligomorphisme » génétique probable des souches transmises de manière strictement mécanique en Amérique Latine. L'analyse des empreintes obtenues en PCR avec des amorces arbitraires tentera d'étayer cette hypothèse.

#### 4.3 INFECTIONS EXPERIMENTALES AVEC DES SOUCHES DE *T. EVANSI*

##### 4.3.1 Moutons

##### 4.3.1.1 Souche du Venezuela

Un lot de 2 moutons Créoles X Black Belly a été infecté avec  $10^4$ - $10^5$  parasites, dans les mêmes conditions que celles décrites pour les infections expérimentales de moutons par *T. vivax*. Les parasites étaient décelables dans le sang 4 à 8 jours après l'inoculation (HCT); les parasitémies, fluctuantes sont restées basses, ne dépassant pas  $10^5$  parasites/ml. Une faible hyperthermie accompagne les pics parasitémiques; la température a atteint au maximum 40°C. La parasitémie et la valeur de l'hématocrite des 2 moutons sont indiquées à la **figure 38**. L'hématocrite chute de 20 à 25% pendant les deux mois qui suivent l'infection, puis revient à sa valeur initiale (**figure 38 a**) ou fluctue en-dessous de sa valeur normale (**figure 38 b**). Pendant les pics thermique les animaux sont parfois abattus, ou au contraire nerveux et excitables.

Lorsque les parasites n'étaient plus détectables dans le sang circulant; des restrictions alimentaires durables ont provoqué, après 20 et 30 jours, des parasitémies détectables par l'HCT (**figure 38**). Les animaux sont restés porteurs du parasite pendant les 300 jours de suivi. Des périodes aparasitémiques ont atteint 160 jours. Les commentaires sur les traitements à l'acéturate de diminazène qui sont indiqués sur les figures seront faits dans la partie de l'étude consacrée aux trypanocides (chapitre 5).

L'expérience a montré un pouvoir pathogène limité mais effectif de cette souche pour les moutons ; une étude plus précise de la pathogénicité, notamment au niveau tissulaire, sera nécessaire pour établir l'impact économique de telles infections.

En outre, il a été observé que le mouton peut rester porteur inapparent du parasite pendant très longtemps, et constitue donc un réservoir potentiel qui peut participer à l'épidémiologie de la trypanosomose à *T. evansi*.

#### 4.3.1.2 Souche asiatique

En comparaison, 2 moutons ont été expérimentalement infectés avec  $10^5$  parasites du clone RoTat 1.2 de *T. evansi* (souche asiatique). Les parasites ont été observés dès le 3<sup>ème</sup> jour suivant l'inoculation, mais les premiers pics parasitémiques importants ont été enregistrés, selon les cas, à J10 ( $10^6$  parasites/ml) et J30 ( $10^4$  parasites/ml). Au vu des parasitémies, une différence notable de sensibilité entre les deux animaux a été enregistrée. Les signes cliniques s'étendent sur une courte période (environ 10 jours) et sont frustes : fièvre, inappétence, excitabilité ; ils ont été globalement comparables à ceux observés avec la souche du Venezuela.

#### 4.3.2 Bovins

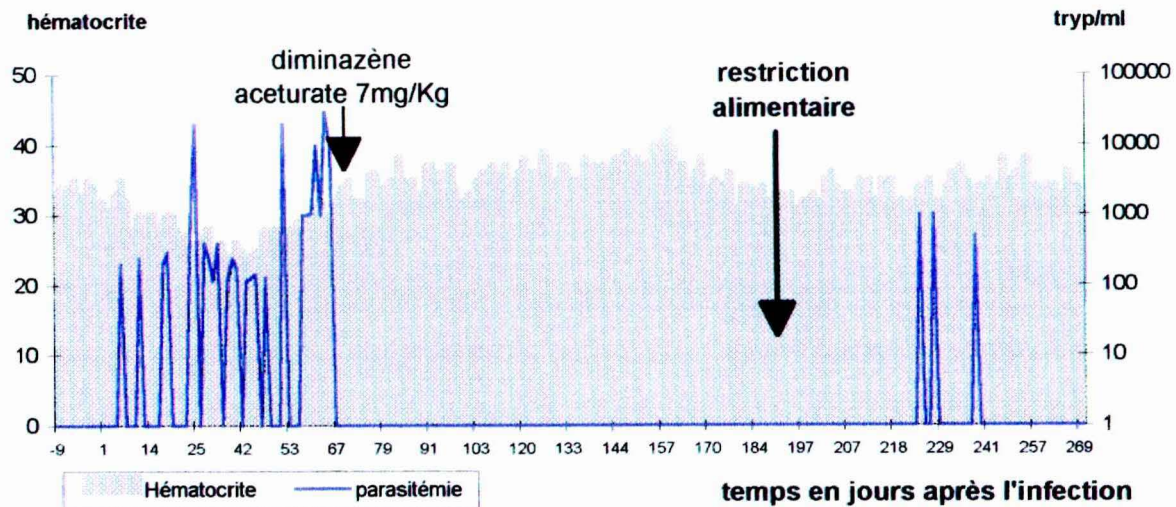
Deux veaux Borans d'un âge de 5 mois ont été expérimentalement infectés avec  $10^5$  *T. evansi* d'une souche isolée en Amérique du Sud par KAGERUKA et MORTELMANS (1971); les parasites ont été observés en très faible quantité (environ  $10^3$  parasites/ml) dans le sang des animaux 2 et 3 jours après inoculation puis n'ont pu être retrouvés durant 20 jours de suivi quotidien. Il a été supposé que les animaux ont spontanément éliminé le parasite. Cette souche apparaît très faiblement pathogène pour les veaux Borans ; sa virulence a pu être atténuée à la suite de nombreux passages sur rongeurs.

#### 4.3.3 Discussion-conclusion

Le nombre limité d'animaux d'expérience infectés par chaque souche de *T. evansi* (3 lots de 2 animaux) n'a pas permis d'observer de variations individuelles comparables à celles observées lors des infections expérimentales par *T. vivax* (1 lot de 4 veaux et 1 lot de 6 pour TVFG1). L'expérience devrait être réalisée chez les bovins avec la souche vénézuélienne de *T. evansi* afin d'évaluer son pouvoir pathogène dans cette espèce. Les capacités d'accueil de notre animalerie n'ont pas permis cette étude. De même, la pathogénicité de la souche vénézuélienne de *T. evansi* chez le cheval n'a pu être étudiée au laboratoire ou sur le terrain, aucun commentaire ne sera donc fait sur ce point.

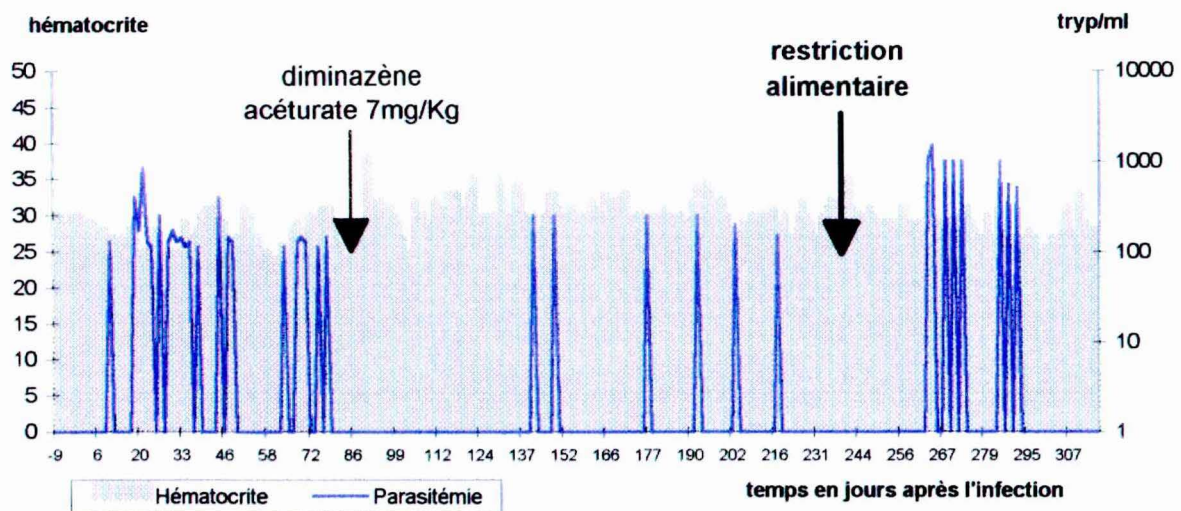
Dans les conditions locales d'élevage, les infections des moutons par la souche de *T. evansi* du Venezuela passent très certainement inaperçues. Ces observations sont à rapprocher de celles de GONZALEZ *et al.* (1995) chez la chèvre, qui s'est avérée un possible réservoir du parasite et qui présente de faibles symptômes au nombre desquels figure une chute de l'hématocrite. L'impact des infections à *T. evansi* sur la production des ruminants domestiques est donc avéré, mais peu connu.





**Figure 38 a**

**Commentaire :** la restriction alimentaire provoque la réapparition d'une parasitémie détectable par la technique de WOO, 30 jours après le début du régime.



**Figure 38 b**

**Commentaire :** la restriction alimentaire provoque la réapparition d'une parasitémie détectable par la technique de WOO, 30 jours après le début du régime.

**Figure 38 : Parasitémies et hématocrites de 2 moutons infectés par *T. evansi* du Venezuela (TEVA1)**

## 5 PROTECTION CROISEE ENTRE SOUCHES DE *T. VIVAX* DU VENEZUELA ET DE GUYANE FRANCAISE

Afin d'évaluer les communautés immunologiques entre une souche du Venezuela et une souche de Guyane Française, des essais de protection croisée ont été entrepris.

### 5.1 MATERIEL ET METHODE

Deux moutons mâles d'un âge de 1 an, issus d'un troupeau indemne de trypanosomose, ont été infectés avec la souche TVVG1 (Venezuela). L'immunisation des animaux a été favorisée par un traitement à l'acéturate de diminazène au troisième mois de l'infection. Elle s'est traduite par un contrôle total de la parasitémie après 220 jours (mouton 13) et 300 jours d'infection (mouton 12). A ce stade l'inoculation de  $10^5$  parasites de la souche TVFG2 a été réalisée sur ces animaux, ainsi que sur un mouton non infecté (mouton 16) servant de témoin de la virulence de l'inoculum.

### 5.2 RESULTATS-DISCUSSION

**Résultats :** Chez l'animal non infecté au préalable, l'inoculation a provoqué l'apparition de fièvre et de parasitémies élevées, atteignant  $10^6$  dès le 5<sup>ème</sup> jour après inoculation ; l'évolution naturelle de l'infection s'est étendue sur 120 jours, l'hématocrite a chuté de 37% à 25% pour revenir à sa valeur de départ 130 jours après l'inoculation (**figure 39**). La virulence de l'inoculum est donc vérifiée.

Chez les animaux préalablement infectés par TVVG1, l'inoculation de TVFG2 a provoqué la réapparition des symptômes avec fièvre et parasitémies atteignant  $10^6$  *T. vivax* /ml dès J6 et J12 après l'infection croisée. La chute de l'hématocrite a toutefois été moins forte et moins durable que lors de la primo-infection. La **figure 40** illustre le schéma infectieux des 2 animaux, et présente l'évolution des parasitémies et hématocrites.

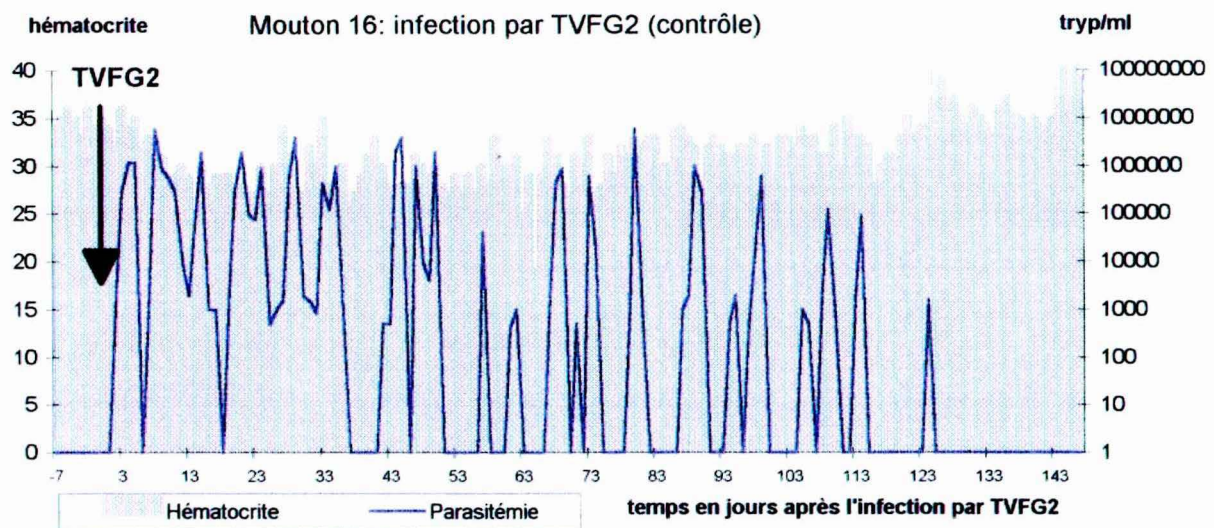
Le mouton 12 a contrôlé la parasitémie 300 jours après l'infection par TVVG1, et 60 jours après l'inoculation par TVFG2 (**figure 40 a**).

Le mouton 13 a contrôlé la parasitémie 220 jours après l'infection par TVVG1, et 20 jours après l'inoculation par TVFG2 (**figure 40 b**). Cet animal a totalement contrôlé l'infection puisqu'une deuxième inoculation de TVFG2 à J308 est restée sans effet.

**Discussion :** Outre la sensibilité individuelle des animaux (le mouton 12 est plus sensible que le mouton 13), cette expérience révèle que les souches étudiées sont différentes, mais qu'il existe une protection croisée partielle entre la souche du Venezuela et celle de Guyane Française (démonstration nette pour l'animal le plus résistant). L'appartenance de ces souches à des sérodèmes différents mais voisins est donc probable.

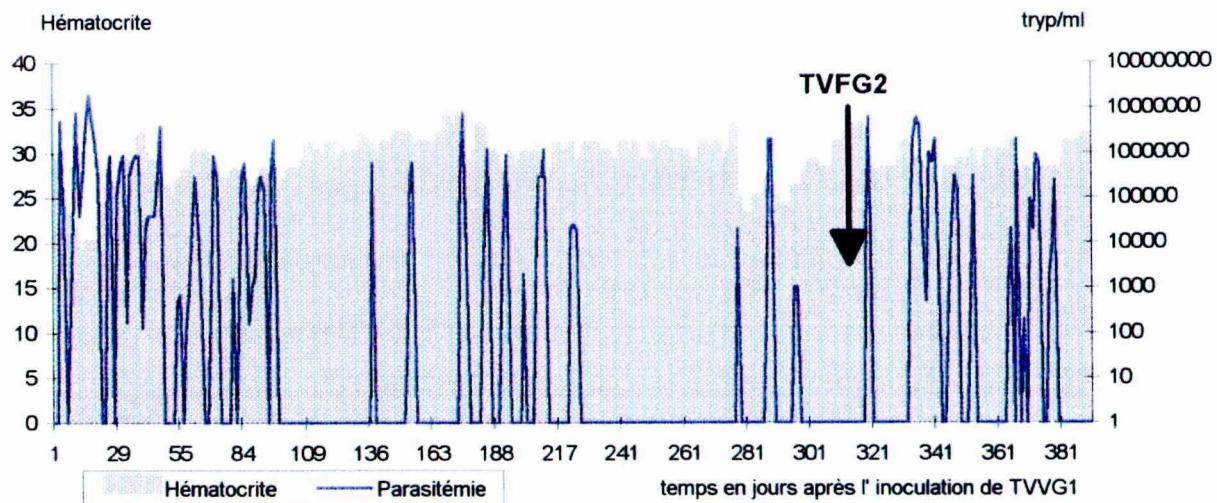
Les expériences de protection croisée menées par DIRIE *et al.* (1993 b), avec 4 souches Colombiennes, ont montré une protection totale entre les souches, et, ajoutées aux autres caractéristiques observées, les auteurs concluaient à l'existence probable d'un unique sérodème pour ces 4 souches. D'après nos travaux, il n'existe pas la même relation entre la souche de Guyane Française et celle du Venezuela.





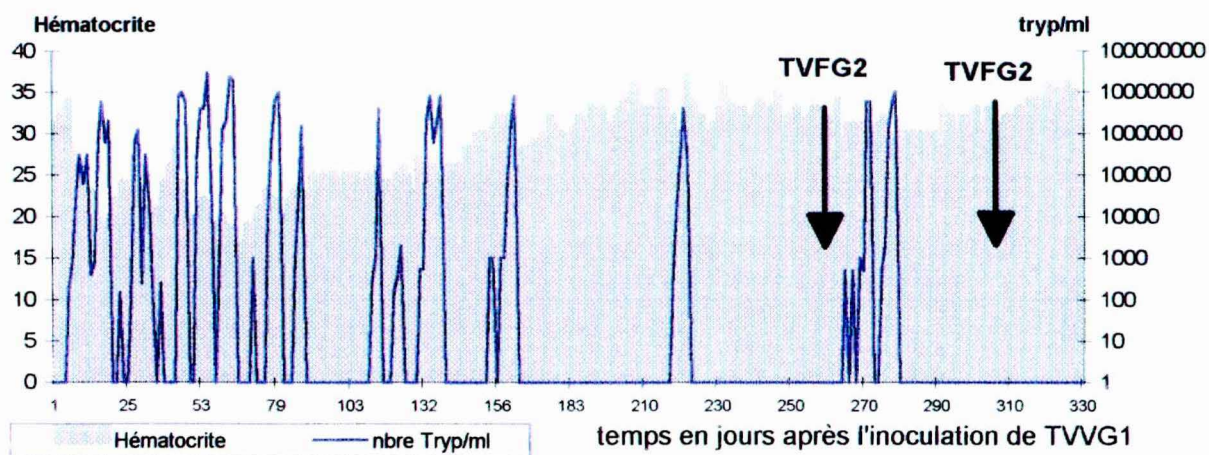
**Commentaire :** l'animal contrôle la parasitémie 125 jours après l'inoculation.

**Figure 39 : Hématocrite et parasitémie d'un mouton infecté par TVFG2 (contrôle de virulence de l'inoculum TVFG2)**



**Figure 40 a : mouton 12**

**Commentaire :** l'animal reçoit un traitement à l'acéturate de diminazène (7mg/kg en IM) à J 90 ; le contrôle de l'infection par TVVG1 est satisfaisant à partir de J300; l'infection croisée avec TVFG2 a été réalisée à J318 ; elle est suivie de signes cliniques et de parasitémiés importantes pendant 60 jours.



**Figure 40 b mouton 13**

**Commentaire :** l'animal reçoit un traitement à l'acéturate de diminazène (7mg/kg en IM) à J 90 ; le contrôle de l'infection par TVVG1 est satisfaisant à partir de J220; l'infection croisée avec TVFG2 a été réalisée à J260; elle est suivie de signes cliniques et de parasitémiés importantes pendant 20 jours, puis les parasites disparaissent définitivement. La ré-inoculation de TVFG2 à J308 est sans effet. L'animal est immun.

**Figure 40 : Hématocrites et parasitémiés de 2 moutons infectés par TVVG1 puis TVFG2**



### 5.3 CONCLUSION

L'existence de plusieurs séroformes sur le continent est probable; elle rend nécessaire le contrôle de la circulation des souches parasitaires, et donc des hôtes potentiellement infectés. Le commerce international du bétail sud-américain sur pied doit donc être assorti d'un traitement stérilisant contre *T. vivax* (chlorure d'isométymidium?) afin d'éviter de répandre des séroformes différents sur l'ensemble du continent. L'étude des caractéristiques génétiques des souches par PCR à l'aide d'amorces arbitraires tentera d'étayer l'hypothèse d'une faible mais substantielle hétérogénéité des souches étudiées.

## 6 CARACTERISATION DES SOUCHES PAR PCR A L'AIDE D'AMORCES ARBITRAIRES

La caractérisation des trypanosomes par la technique des amorces arbitraires (« Random-Priming » ou « Arbitrary-Priming » : « AP-PCR ») a été initiée par WAITUMBI et MURPHY (1993) ; elle repose sur l'interprétation des empreintes spécifiques (« patterns » ou « finger-printing » pour les anglo-saxons) obtenues par PCR avec des oligonucléotides courts dont la succession de bases est arbitraire (amorces arbitraires). Sur 13 amorces arbitraires testées, 1 oligonucléotide de 10 bases (ILO525) permettait de différencier les 37 isolats de *T. congolense*, *T. simiae*, *T. brucei* et *T. evansi* éprouvés. La méthode a également été appliquée à *T. vivax* par DIRIE *et al.* (1993 a), qui ont retenu 3 oligonucléotides de 10 à 11 bases (ILO525, ILO101 et ILO1060) ; parmi ceux-ci, ILO525 permettait de distinguer tous les clones ou isolats de *T. vivax* éprouvés. Les principaux enseignements obtenus par ces examens confirment la plupart des données fournies par les autres techniques de caractérisation, notamment les analyses isoenzymatiques, à savoir la ressemblance des souches de *T. vivax* d'Amérique Latine avec celles d'Afrique de l'Ouest, et leur éloignement des souches isolées au Kenya. En outre ILO525 semble permettre de distinguer tous les isolats de *T. vivax* les uns des autres. Dans le cas de *T. evansi*, la capacité de différencier des isolats par AP-PCR est cependant inférieure à celle de la technique de caryotypage.

Ces études étant à leur début, il est encore prématuré de les interpréter quant à leur reproductibilité et leur signification, mais elles présentent l'avantage incontestable d'être simples, rapides et spécifiques, et de ne requérir qu'une quantité infime de parasites ; avantage notable pour l'étude de *T. vivax* dont la production est limitée. L'oligonucléotide ILO525 a été utilisé pour caractériser les isolats de *T. vivax* de Guyane Française et de *T. vivax* et *T. evansi* du Venezuela.

### 6.1 CARACTERISATION DES SOUCHES LOCALES DE *T. VIVAX* ET *T. EVANSI*

L'objectif de la présente expérience est de vérifier qu'il est possible de différencier toutes les souches étudiées, de comparer leurs empreintes à celles de souches africaines, et de les comparer entre-elles afin d'évaluer leur diversité génétique.

#### 6.1.1 Matériel et méthodes

Quatre moutons ont été expérimentalement infectés avec les souches TVFG1, TVFG2, TVFG3 et TVVG1, et une souris C3H est infectée avec la souche TEVA1. Lors d'un pic parasitémique, du sang est collecté sur héparine, et les trypanosomes sont séparés sur colonne de DEAE 52 selon la technique de LANHAM et GODFREY (1972), dénombrés, puis resuspendus en eau distillée à la concentration d'environ

10<sup>4</sup> parasites/ml. Des lysats de *T. congolense* (IL1180, type savane) et *T. vivax* africain (IL3568) préparés dans les mêmes conditions à l'ILRI sont utilisés pour comparaison. Les isolats ainsi préparés sont éprouvés avec l'oligonucléotide ILO525 et révélés sur gel d'agarose à 2%, comme indiqué par DIRIE *et al.* (1993 a). Des échantillons d'ADN de mouton, de bovin et de souris ont été préparés avant l'infection de ces animaux, et testés dans les mêmes conditions pour s'assurer que leur matériel génétique n'interfère pas dans l'expérience.

### 6.1.2 Résultats

La **figure 41** reproduit des photos des gels sous UV (gels à 2% d'agarose). Les échantillons d'ADN de mouton, de bovin et de souris ne présentent aucun produit visible dans les conditions de PCR utilisées (**figure 41 b**, colonne 5 (ovin) et 9 (souris) ; **figure 41 d**, colonne 5 (bovin)). Les résultats obtenus permettent de différencier très clairement les trois sous-genres: *T. vivax*, *T. evansi*, et *T. congolense*.

*T. congolense* IL1180 type savane présente une empreinte très voisine de celles obtenues par WAITUMBI et MURPHY (1993) et DIRIE *et al.* (1993 a), avec notamment les bandes majeures d'approximativement 369, 600, 700, et 800 paires de bases (pb), ainsi que deux produits de plus de 1000pb (**figure 41 a**, colonne 11). La reproductibilité de l'expérience est donc avérée pour ce parasite.

*T. evansi* du Venezuela (TEVA1) présente une empreinte différente de celle obtenue par WAITUMBI et MURPHY avec la souche KETRI3260, avec notamment absence de la bande 287pb et présence de 3 bandes de poids moléculaires supérieurs à 1000pb (1100, 1350 et environ 2000); en revanche le doublet de 738pb est retrouvé (**figure 41 b**, colonnes 10-11). La reproductibilité du test est donc partielle.

Avec les souches de *T. vivax* sud-américaines on observe la présence systématique de 6 bandes ou doublets majeurs (**figure 41 a**, colonnes 2-9), ayant pour nombre de paires de bases approximatifs: 380-400, 480-500, 600-630, 870-900, 1050, et 1200 (les poids soulignés correspondent aux produits toujours présents). L'empreinte présentée par la souche africaine (IL3568) est plus limitée, avec les produits majeurs suivants: 480-500 (doublet), 600, 650, 870, et 1050 (**figure 41 c**, colonne 11). Dans une autre réaction, non représentée, un produit est également nettement visible autour de 1400pb.

Dans certains cas, avec les souches de Guyane Française, on observe un doublet 380-400pb (**figure 41 a**, colonnes 2-7), alors que la souche du Venezuela ne présente qu'un seul produit de 400pb (colonnes 8-9). La présence de ce doublet n'est toutefois pas constante (**figure 41 d**, colonnes 2 à 7) et ne permet pas de différencier les souches de Guyane et du Venezuela de manière satisfaisante.

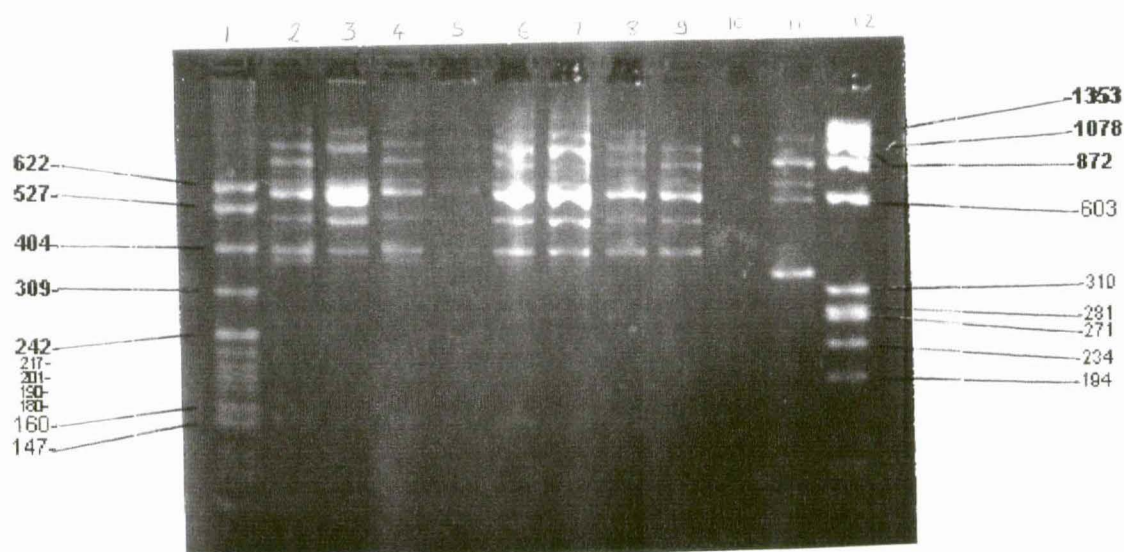
Enfin, avec TVFG3, une bande d'environ 1350 pb est visible (**figure 41 d**, colonnes 6-7) de manière inconstante (**figure 41 a**, colonnes 6-7).

Avec la souche TVFG1, on observe une empreinte différente lorsque la souche est cultivée sur mouton (**figure 41 a**, colonne 2) ou sur bovin (colonne 3), on observe notamment l'absence de la bande 850-900pb et la présence d'une très large bande de 580 à 630pb avec l'échantillon préparé à partir du sang de bovin. L'existence d'un impact de l'espèce hôte sur le résultat de l'analyse est donc suggérée dans cette expérience.



Poids en pb du marqueur  
pBR 322 DNA Msp I Digest

Poids en pb du marqueur  
φX 174 DNA-HaeIII Digest

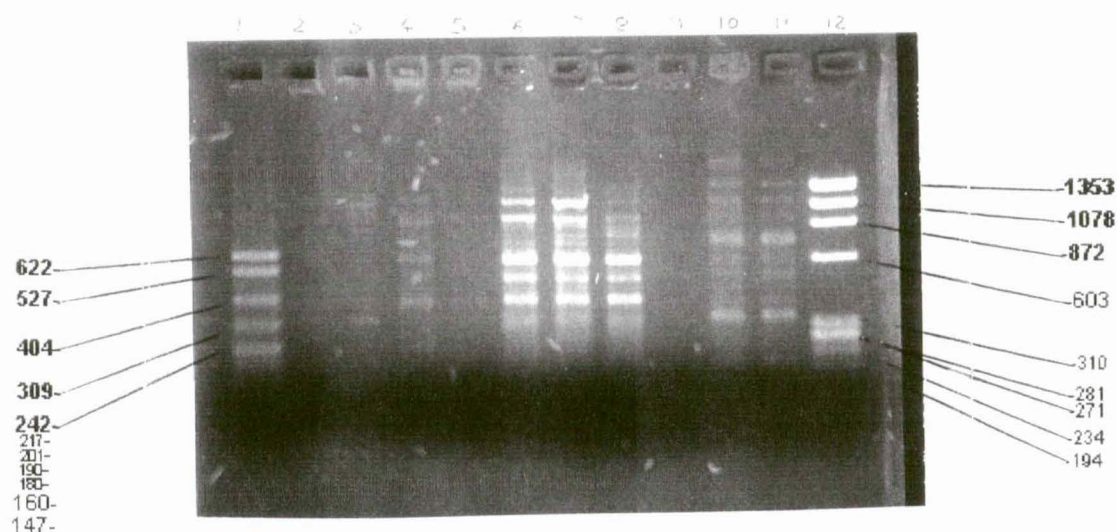


**Figure 41 a**

**Légende :** (1) marqueur moléculaire pBR 322 DNA Msp I Digest ; (2) TVFG1/ovine ; (3) TVFG1/bovine n°324 ; (4-5) TVFG2/ovine ; (6-7) TVFG3/ovine ; (8-9) TVVG1/ovine ; (10) ADN de mouton non infecté ; (11) *T. congolense* IL1180/souris ; (12) marqueur moléculaire φ X 174 DNA Hae III Digest.

Poids en pb du marqueur  
pBR 322 DNA Msp I Digest

Poids en pb du marqueur  
φX 174 DNA-HaeIII Digest



**Figure 41 b**

**Légende :** (1) marqueur moléculaire pBR 322 DNA Msp I Digest ; (2) eau distillée ; (3-4) TVFG2/ovine ; (5) ADN de mouton non infecté ; (6-7) TVFG3/ovine ; (8) TVVG1/ovine ; (9) ADN de souris non infectée ; (10-11) *T. evansi* TEVA1/souris ; (12) marqueur moléculaire φ X 174 DNA Hae III Digest.

**Figure 41 : Gels d'électrophorèse obtenus par PCR avec l'oligonucléotide ILO525 sur diverses souches de *Trypanosoma* spp.**

Poids en pb du marqueur  
pBR 322 DNA Msp I Digest

Poids en pb du marqueur  
 $\phi$ X 174 DNA-HaeIII Digest

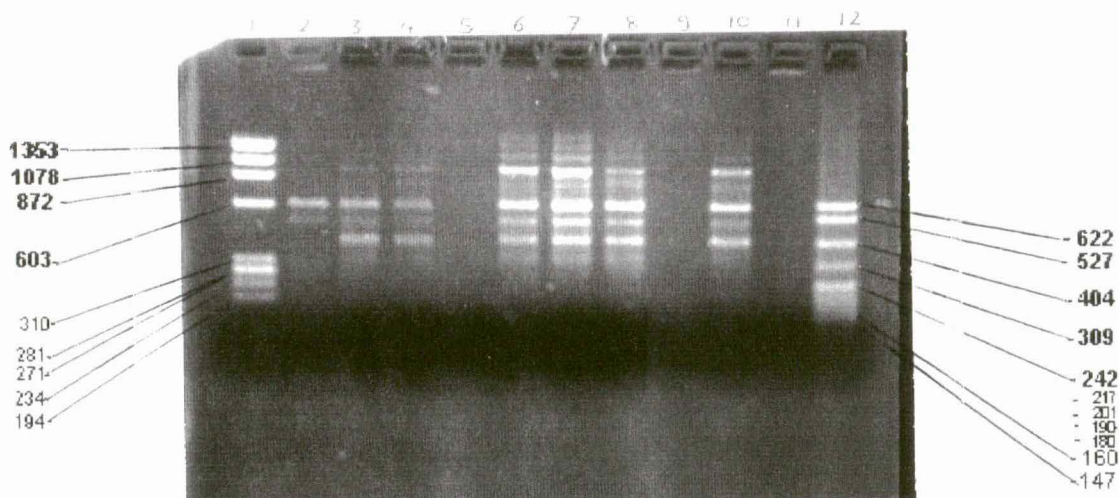


**Figure 41 c**

**Légende :** (1) marqueur moléculaire pBR 322 DNA Msp I Digest ; (6) TVFG1/ovine ; (7) ADN de mouton non infecté ; (8) ADN de souris non infectée ; (9) TVFG2/ovine ; (10) TVFG3/ovine ; (11) *T. vivax* IL3568/souris ; (12) marqueur moléculaire  $\phi$  X 174 DNA Hae III Digest.

Poids en pb du marqueur  
 $\phi$ X 174 DNA-HaeIII Digest

Poids en pb du marqueur  
pBR 322 DNA Msp I Digest



**Figure 41 d**

**Légende :** (1) marqueur moléculaire  $\phi$  X 174 DNA Hae III Digest ; (2) TVFG1/bovine 354 ; (3) TVFG1/ovine ; (4) TVFG2/ovine ; (5) ADN de bovin non infecté ; (6-7) TVFG3/ovine ; (8) TVVG1/ovine (9) ADN mouton non infecté ; (10) TVVG1/ovine ; (11) eau distillée. (12) marqueur moléculaire pBR 322 DNA Msp I Digest.

**Figure 41 : Gels d'électrophorèse obtenus par PCR avec l'oligonucléotide ILO525 sur diverses souches de *Trypanosoma* spp. (suite)**



### 6.1.3 Discussion

Dans l'ensemble, les résultats obtenus avec les souches de *T. vivax* éprouvées diffèrent de ceux obtenus par DIRIE *et al.* avec des souches africaines et colombiennes, pour lesquelles la majorité des produits de PCR de *T. vivax* possédaient plus de 872pb, avec un produit majeur aux alentours de 1400pb et d'autres bandes majeurs plus lourdes. Toutefois les souches colombiennes isolées sur la côte (IL3842, Monteria, et IL3841, Loricá) présentaient des empreintes très voisines des souches de Guyane et du Venezuela, avec, notamment, la présence de produits d'environ 400, 500 et 600pb; en particulier, IL3842 présentait une empreinte très voisine de celles obtenues dans notre expérience avec les 4 souches sud-américaines.

Dans les travaux de DIRIE *et al.*, l'existence des 2 ou 3 bandes de faible poids (400, 500 et 600pb) n'a été trouvée que chez les 2 souches colombiennes isolées sur la côte et des souches africaines adaptées aux rongeurs. Dans notre expérience la souche africaine adaptée aux rongeurs (IL3568) et l'ensemble des souches sud-américaines présentent ces produits.

Bien que des différences individuelles aient pu être occasionnellement observées entre les diverses souches sud-américaines étudiées, l'expérience n'a pas permis de différencier clairement et avec une reproductibilité satisfaisante les souches de Guyane Française de la souche du Venezuela, ni de différencier les souches de Guyane Française entre-elles; de plus, des variations à l'intérieur d'une même souche n'étant pas exclues (cf. paragraphe suivant), à ce stade des connaissances, l'interprétation des faibles variations observées entre les souches sud-américaines serait hasardeuse. Dans l'ensemble, les variations semblent davantage dues à la variation d'intensité globale de la réaction, soit une variation « quantitative » tenant probablement à la qualité et la disponibilité de l'ADN parasite dans l'échantillon plus qu'à une variation « qualitative » de la réaction qui révélerait de réelles différences dans les séquences de bases des divers parasites locaux étudiés. Quoiqu'il en soit, de manière reproductible, les 4 souches sud-américaines de *T. vivax* ont présenté des empreintes différentes de la souche africaine, et la souche vénézuélienne de *T. evansi* a présenté une empreinte différente de la souche africaine.

Dans les techniques utilisées par DIRIE *et al.* (1993 a) et WAITUMBI et MURPHY (1993), les parasites sont préparés soit par digestion protéique en agarose (DIRIE *et al.*, 1993 a, et WAITUMBI et MURPHY, 1993), soit lysés en présence de SDS et de protéinase K (WAITUMBI et MURPHY, 1993). La différence entre les deux techniques n'est pas étudiée, et la technique utilisée pour chaque isolat n'est pas signalée.

Dans notre expérience les parasites sont lysés en eau distillée à la concentration de  $10^4$ /ml. Il est possible que ce mode de préparation des échantillons soit à l'origine d'une partie des différences observées; dans tous les cas l'expérience révèle la fragilité du système étudié puisque certains de nos résultats n'ont pas été reproductibles (présence inconstante du doublet 380/400 KDa sur les souches de Guyane Française). Une standardisation rigoureuse des méthodes est impérative pour obtenir des résultats comparables; en outre, des échantillons de référence fixes devraient être analysés pour s'assurer de la reproductibilité de la méthode entre manipulateurs et laboratoires.

Signalons enfin que la qualité de la réaction semble altérée par les étapes successives de congélation-décongélation, car la richesse des empreintes observées a diminué au cours du temps pour un même échantillon. Il est probable que l'utilisation de protéases et l'aliquotage des échantillons permettraient d'éviter ces problèmes.

#### 6.1.4 Conclusion

En conclusion de cette expérience, la caractérisation des sous-genres (*T. vivax*, *T. evansi* et *T. congolense*) et la différenciation d'une part des souches africaines, et de l'autre des souches sud-américaines de *T. vivax* et *T. evansi* ont été possibles à l'aide de l'oligonucléotide ILO525; en revanche, il n'a pas été possible de différencier de manière satisfaisante les souches de *T. vivax* de Guyane et du Venezuela. Il est probable que le matériel génétique de ces souches présentent de grandes similitudes.

Dans l'expérience de DIRIE *et al.* (1993 a) les 13 souches africaines et colombiennes avaient pu être différenciées, bien que les expériences de protection croisée entre souche colombiennes n'aient pas montré de différence sur le plan immunitaire.

A l'inverse, dans nos observations, les différences immunitaires entre *T. vivax* du Venezuela et de Guyane Française sont démontrées, alors que la différenciation par AP-PCR n'est pas possible. L'outil de diagnostic n'est donc pas assez puissant pour mettre en évidence les caractéristiques immunologiques des souches étudiées.

### 6.2 ETUDE DU POLYMORPHISME GENETIQUE DES SOUCHES

Dans l'expérience de DIRIE *et al.* (1993 a), l'oligonucléotide ILO525 a permis de distinguer toutes les souches testées. La capacité de cet oligonucléotide de distinguer des sous-populations à l'intérieur d'un isolat n'a pas été éprouvée puisque les souches et clones testés n'étaient isolés qu'à une seule occasion.

L'objectif de la présente expérience est d'apprécier si les empreintes fournies par les parasites sont constantes, ou variables d'un pic parasitémique à l'autre, ce qui traduirait la structure polyclonale de la souche, révélée par une population dominante différente lors des pics parasitémiques successifs.

#### 6.2.1 Matériel et méthodes

Les réactions de PCR sont conduites comme indiqué par DIRIE *et al.* (1993 a) et révélées sur un gel à 2% d'agarose. Cinq isolements sont réalisés lors de 5 pics parasitémiques successifs chez un mouton infecté par TVFG2. A titre de comparaison, des lysats de TVVG1 et TVFG1 sont éprouvés au cours de la même réaction.

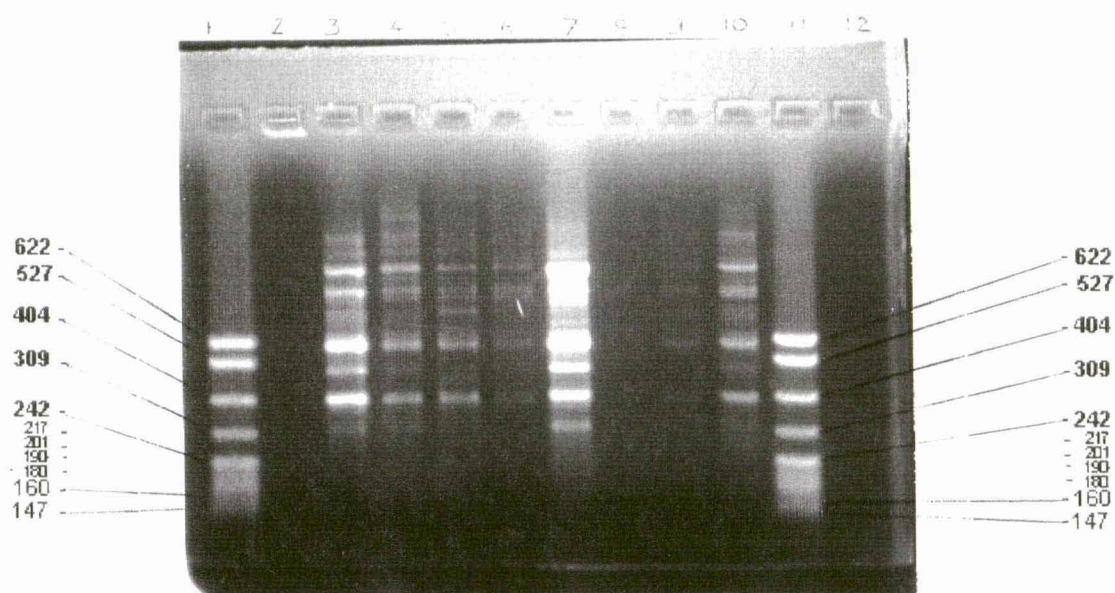
#### 6.2.2 Résultats

L'intensité globale de la réaction et, en conséquence, la fluorescence des bandes, varient d'un isolement à l'autre, l'aspect quantitatif de la réaction ne sera donc pas interprété. Une reproduction du gel (2% d'agarose) est présentée à la **figure 42**. En revanche, l'aspect qualitatif indique que des produits 400pb, 600-630pb, 850-900pb et 1050pb sont toujours visibles ; un produit d'environ 300pb n'est visible que lors des deux premiers isolements, inapparent lors des deux suivants, et devient à nouveau clairement visible lors du cinquième pic parasitémique ; le produit 480-500pb n'est pas visible lors des 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> pics parasitémiques, toutefois sa disparition accompagne une baisse générale d'intensité de la réaction et reste difficilement interprétable; enfin l'apparition d'un produit d'environ 750 pb n'est visible que lors du troisième pic parasitémique. Une image positive ayant plus de valeur qu'une image négative, cette dernière variation est davantage significative que les précédentes. L'expérience a donc permis de mettre en évidence de très faibles variations génétiques parmi les isolats d'une même souche.



Poids en pb du marqueur  
pBR 322 DNA Msp I Digest

Poids en pb du marqueur  
pBR 322 DNA Msp I Digest



**Légende :** (1) et (11) marqueur moléculaire pBR 322 DNA Msp I Digest ; (2) eau distillée ; (3-7) TVFG2/mouton n°8 ; de 3 à 7 les dates d'isolement de TVFG2 sont indiquées en jours après l'infection : (3) J9 ; (4) J17 ; (5) J34 ; (6) J50 ; (7) J 68 ; (8) eau distillée ; (9) TVVG1/ovin ; (10) TVFG1/ovin ; (11) marqueur pBR 322 ; (12) puits vide.

**Figure 42 :** Gel d'électrophorèse obtenu en PCR avec l'oligonucléotide ILO525 sur divers isolats d'une même souche de *T. vivax* (TVFG2) cultivée sur mouton

### 6.2.3 Discussion-conclusion

Testée dans les mêmes conditions, une souche uniclonale présenterait une empreinte constante quel que soit le pic parasitémique puisque son matériel génétique serait constant.

Les variations de l'empreinte de la souche TVFG2 au cours des divers pics parasitémiques indiquent qu'il s'agit d'une souche polyclonale. La capacité de l'oligonucléotide ILO525 à différencier toutes les souches de *T. vivax* étudiées par DIRIE *et al.* (1993 a) n'est donc pas limitée à la différenciation des souches, mais également à celle des populations provisoirement dominantes à l'intérieur d'une souche. Cette interprétation repose toutefois en partie sur l'aspect « quantitatif » de la PCR qui est encore mal connu, en particulier dans le cas de la RAPD.

Soulignons que le polymorphisme observé à l'intérieur de la souche TVFG2 est faible. Une étude comparative entre souches africaines et américaines permettrait de vérifier l'hypothèse qu'un polymorphisme faible, ou « oligomorphisme » serait lié à une transmission mécanique en Amérique Latine, alors qu'un polymorphisme élevé serait rencontré dans les isolats africains recueillis en zones infestées par les glossines ; leur polymorphisme étant lié à une transmission cyclique du parasite (modification du matériel génétique chez l'insecte), à l'existence de pressions parasitaires élevées (multi-infections), et à l'abondance de réservoirs sauvages qui sélectionnent des souches différentes de celles sélectionnées par le bétail domestique. Cette hypothèse serait notamment confortée par le fait que, chez *T. vivax*, les hybridations génétiques sont limitées, semblent n'avoir lieu que dans des conditions particulières (TIBAYRENC et AYALA, 1987, GIBSON, 1995), et se réalisent exclusivement chez l'hôte intermédiaire (KOOY, 1991) absent en Amérique.

Une étude plus complète des souches isolées en Amérique Latine permettrait d'autre part de confirmer que les autres souches américaines de *T. vivax* ne présentent également qu'un faible polymorphisme.

Plus le polymorphisme génétique d'une souche est grand, plus la capacité de cette souche à présenter un répertoire antigénique important a de chances d'être élevée. La connaissance du polymorphisme génétique d'un isolat pourrait donner une idée de sa capacité à échapper au système immunitaire de l'hôte. Elle conditionnerait ainsi le mode de lutte envisagé: une souche présentant un faible polymorphisme pourra être contrôlée naturellement par le bétail à l'aide de quelques traitements d'appoint non stérilisants puisque son répertoire antigénique serait limité; en revanche, une souche possédant un fort polymorphisme devrait être contrôlée par un traitement chimioprophylactique stérilisant puisque, dans ce cas, le système immunitaire du bétail risque d'être débordé.

L'étude des empreintes obtenues avec l'ILO525 chez les diverses souches sud-américaines de *T. vivax* permet-elle de mettre en relation les résultats obtenus et la sensibilité aux trypanocides ?

En effet, un produit de 1350pb est visible avec la souche sensible à l'acéturate de diminazène (TVFG3) et n'est pas retrouvé avec les autres souches (TVFG1, TVFG2 et TVVG1) résistantes au produit. Il est prématuré d'interpréter la présence ou l'absence de cette bande comme un marqueur de résistance, des études sur un plus grand nombre de souches sont nécessaires.

Enfin, si la technique des amorces arbitraires présente l'avantage d'être simple, elle ne donne toutefois que peu d'indications car on ignore la nature des séquences concernées. Si les séquences sont



codantes, la relation entre les variations observées et le phénotype de la souche peut présenter un intérêt (pathogénicité, résistance aux trypanocides, etc.) ; si la variabilité correspond à une recombinaison interne temporaire (switching) ou à une séquence non codante, elle n'aura aucune application

### 6.3 CONCLUSION

La caractérisation de multiples isolats de *T. evansi* et *T. vivax* d'Amérique Latine pourrait être entreprise à l'aide de la RAPD, d'autant que des résultats encourageants ont déjà été obtenus en Chine, où il a été possible de mettre en relation la présence d'un certain produit de PCR avec l'existence d'une chimio-résistance chez *T. evansi* (LUN, cité par TOURATIER, 1996), mais une standardisation plus complète de la méthode est requise, ainsi que l'identification d'oligonucléotides plus performants.

Entre nos mains, l'utilisation de l'oligonucléotide ILO525 a permis de :

- montrer des différences génétiques majeures entre les souches locales de *T. vivax* et la souche africaine IL3568;
- montrer des différences génétiques importantes entre la souche vénézuélienne de *T. evansi* et la souche KETRI3260 isolée au Kenya ;
- montrer la relative homogénéité de trois souches de *T. vivax* isolées en Guyane Française et d'une souche isolée au Venezuela;
- souligner le rôle éventuel de l'espèce hôte dans le profil génétique présenté par la population parasitaire dominante;
- montrer la structure polyclonale d'un isolat de *T. vivax* de Guyane Française.

Toutefois, la résolution des empreintes sur gel et la reproductibilité des résultats sont encore insuffisantes. La standardisation de la technique des amorces arbitraires avec ILO525 (ou autre) doit être très rigoureuse car la qualité et la quantité de l'ADN parasitaire dans le milieu réactionnel conditionnent étroitement celles de la polymérisation en chaîne.

La standardisation devra notamment porter sur :

- l'isolement et la préparation des parasites ;
- la purification de l'ADN ;
- la détermination de la concentration optimale d'ADN parasitaire dans le milieu de PCR ;
- l'utilisation de conditions d'hybridations plus strictes ;
- l'utilisation d'ADN témoins ;
- l'adjonction de quelques bases supplémentaires à l'ILO525.

Ces précautions devraient permettre d'améliorer la reproductibilité de la technique et sa capacité diagnostique. En particulier, l'obtention d'une empreinte de référence avec un ADN témoin devrait être la condition d'acceptation ou de rejet des résultats. Des travaux complémentaires sont donc requis pour confirmer ces premiers résultats.

Enfin, l'utilisation de plusieurs amorces arbitraires est nécessaire pour affiner les résultats précédents et confirmer leur signification, par recoupement des résultats obtenus ces amorces. Cette orientation semble actuellement recevoir l'adhésion de la majorité des utilisateurs. Des travaux complémentaires en ce sens seront donc entrepris.

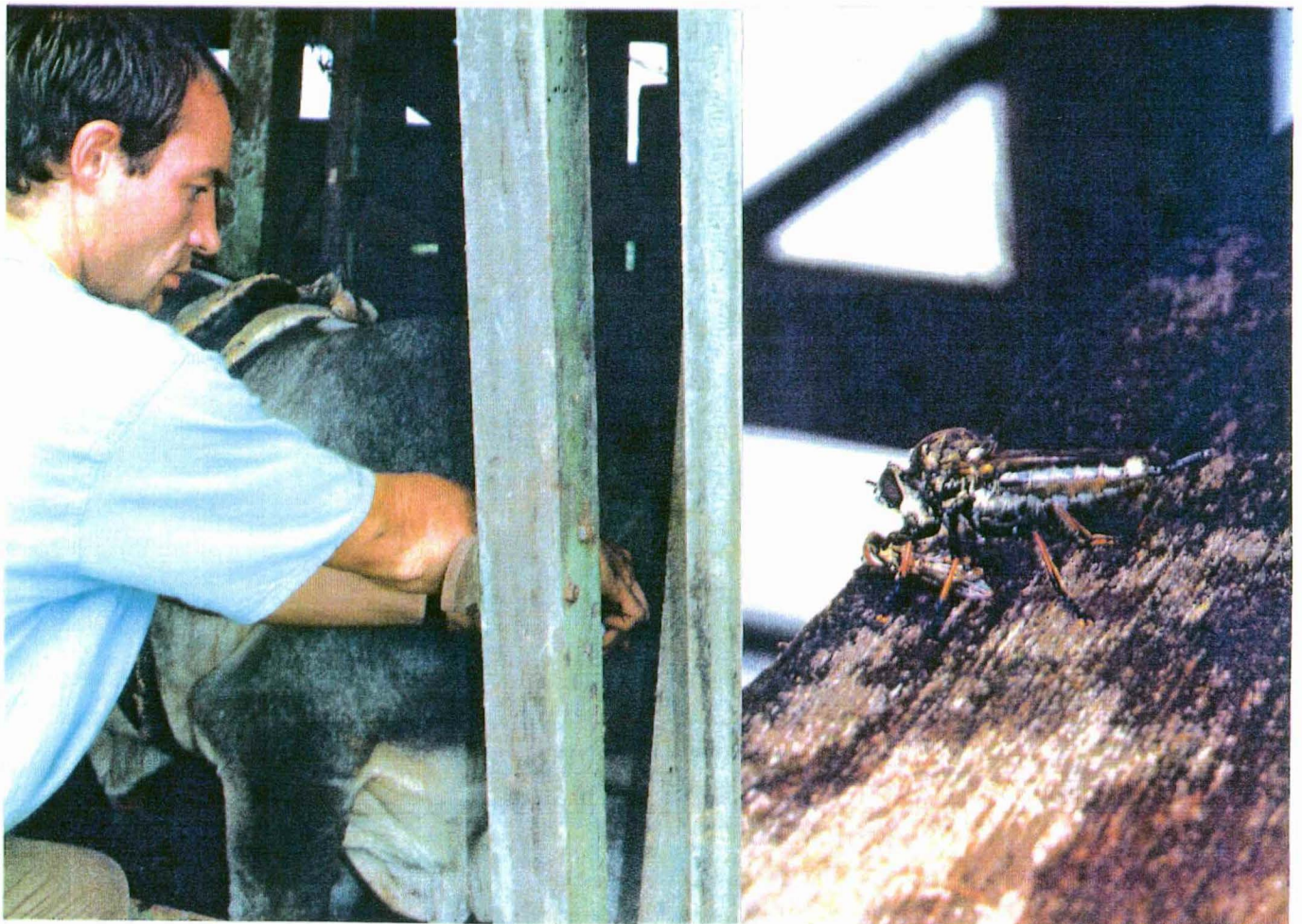






## CHAPITRE CINQUIÈME :

# LUTTE CONTRE LES TRYPANOSOMES ET LEURS VECTEURS



## INTRODUCTION

Dans le Nouveau Monde, les trypanosomoses du bétail sévissent, sous forme de foyers épizootiques, tantôt occasionnels, tantôt sur fond d'enzootie, selon les zones géographiques.

Dans les foyers épizootiques occasionnels la maîtrise du parasite chez l'hôte, à l'aide de trypanocides, est le mode de lutte le plus rapide et le plus adapté.

Dans les secteurs enzootiques, le mode de lutte idéal serait le contrôle des parasites par immunisation des hôtes contre les trypanosomes, ou par chimioprophylaxie lorsque celle-ci est justifiée par une forte pathogénicité des souches et l'incapacité des hôtes à contrôler l'infection. L'alternative au contrôle des parasites est celui des vecteurs, mais les techniques actuellement disponibles ne le permettent que très partiellement.

Une brève revue des trypanocides disponibles est présentée, suivie de l'exposé de travaux d'évaluation de la sensibilité des souches locales aux trypanocides les plus utilisés dans le Nouveau Monde. Des propositions stratégiques qui découlent de ces travaux et de l'épidémiologie des trypanosomoses en Amérique Latine seront exposées; notamment les particularités de la chimiothérapie et de la chimioprophylaxie qui dans le cas de *T. vivax* s'opposent souvent à celles usuellement recommandées en Afrique.

Les perspectives de recherche dans le domaine de l'immunisation contre les trypanosomes sont rappelées. Afin d'élaborer un nouveau mode de lutte contre les vecteurs, suivant la même approche que dans la lutte contre *Boophilus microplus*, des essais d'immunisation des bovins contre le principal vecteur des trypanosomes, les Tabanidés, ont été entrepris. Ces travaux seront brièvement exposés.

## 1 LUTTE CHIMIQUE

### 1.1 REVUE DES TRYPANOCIDES

#### 1.1.1 Acéturate de diminazène

L'acéturate de diminazène (Berenil<sup>ND</sup>, Veriben<sup>ND</sup>) est une diamidine aromatique, qui a été décrite pour la première fois en 1955, son mode d'action sur les parasites résulterait du blocage de la glycolyse et de la synthèse de l'ADN; chez les ruminants la tolérance locale est assez bonne, et il peut être injecté par voie intramusculaire ou sous-cutanée (WOO, 1970). L'usage de l'acéturate de diminazène dans le contrôle des babésioses bovines et des trypanosomoses chez les bovins, ovins et caprins à la dose de 3,5 mg/kg à 7 mg/kg s'est rapidement généralisé (PEREGRINE et MAMMAN, 1993). A la dose de 7mg/Kg il aurait également une action sur *T. theileri* (REITER *et al.*, 1987).

**Chez les ruminants :** Chez les bovins, ovins et caprins, l'acéturate de diminazène est indiqué pour le traitement curatif de la trypanosomose, notamment due à *T. vivax*, il n'a aucune action prophylactique. Pour cette raison il est recommandé en Afrique dans les zones de faible pression parasitaire, ou pour le contrôle de foyers épizootiques ou sporadiques. Appliqué dans les élevages, au Brésil (SILVA, communication personnelle) et en Guyane Française, il engendre généralement la disparition des signes cliniques.

L'acéturate de diminazène a longtemps semblé ne pas connaître de résistance, mais à partir de 1960, des souches de trypanosomes résistantes ont été identifiées dans de nombreux pays africains :



FUSSGÄNGER et BAUER, 1960; BAUER, 1962 ; MACLENNAN et JONES-DAVIS 1967 (Nigeria); JONES-DAVIES 1967 (Nigeria) et 1968; GRABER 1968 (Tchad); MACLENNAN et NA'ISA 1970 (Nigeria); MWANBU et MAYENDE 1971 (Ouganda); FINELLE 1973, NJAU *et al.*, 1981 (Tanzanie); RÖTTCHER et SCHILLINGER 1985 (Kenya); MBWAMBU *et al.*, 1988 (Tanzanie), et, plus tardivement, dans les pays sud-américains.

En Colombie, la résistance des infections à *T. vivax* à une dose de 3,5mg/Kg d'acéturate de diminazène a été signalée par HULL (1971) et BETANCOURT (1978 a). WELLS *et al.* (1982 b) suggèrent que la dose de 7mg/Kg devrait permettre le contrôle du parasite, mais aucune évaluation expérimentale ne l'a confirmé. De nombreuses observations sur l'efficacité de l'acéturate de diminazène ont reposé sur l'amélioration clinique des animaux et sur la disparition des parasites de la circulation sanguine après le traitement, mais pas sur ses capacités réelles de stérilisation des animaux (SILVA, communication personnelle). A l'inverse, plus récemment, au Venezuela, ESPINOZA soupçonne directement sur le terrain la résistance à l'acéturate de diminazène (communication personnelle). L'origine des résistances observées au Venezuela pourrait être recherchée dans l'usage de très nombreux composés dérivés de l'acéturate de diminazène qui sont appliqués pour le contrôle des babésioses et/ou trypanosomoses : Babenil<sup>ND</sup>, Batrival<sup>ND</sup>, Diminazeno Mck<sup>ND</sup>, Ganaseg<sup>ND</sup>, Pirobenz<sup>ND</sup>, Tribabenox<sup>ND</sup>, Veriben<sup>ND</sup> (ESPINOZA, communication personnelle).

L'acéturate de diminazène possède une certaine rémanence dans le lait; il est détecté à 50 ng/ml 72H après traitement IV de 2 mg/Kg (PEREGRINE et MAMMAN, 1993), et aux doses de 4,56ng/ml et 8,76ng/ml de lait 21 jours après des traitements IM de 3,5 et 7 mg/Kg chez des vaches laitières (MDACHI *et al.*, 1995). La rémanence du produit ne s'accompagne d'aucune activité trypanocide. Un délai d'attente supérieur à 28 jours est recommandable; toutefois, en France, les délais d'attente recommandés sont de 20 et 3 jours respectivement pour la viande et le lait (WATRIN, Roussel UCLAF, communication personnelle).

**Autres espèces :** Chez le cheval, la résistance de *T. evansi* à l'acéturate de diminazène est fréquemment observée (MANCEBO et MONZON, 1986), elle est parfois très élevée; ainsi, ZHANG *et al.* (1992) ont montré qu'une souche de terrain était résistante à la dose de 89mg/kg chez la souris. En outre, la tolérance du produit n'est pas bonne, l'acéturate de diminazène n'est donc pas recommandé pour le traitement des trypanosomoses à *T. evansi* du cheval. Chez le dromadaire l'acéturate de diminazène est considéré comme toxique. D'après SABANSHIEV (cité par PEREGRINE et MAMMAN, 1993), l'acéturate de diminazène a apparemment permis d'éliminer *T. equiperdum* à la dose de 5mg/Kg; toutefois, pour les infections à *T. equiperdum*, le traitement est déconseillé au profit de l'abattage; de plus certaines souches sont résistantes au produit (ZHANG *et al.*, 1992). Des souches de *T. evansi* et *T. equiperdum* sélectionnées pour leur résistance à l'acéturate de diminazène s'avèrent également résistantes à la mélarsomine, alors que ces composés n'ont aucun lien chimique; en revanche ces souches deviennent plus sensibles à la quinapyramine (ZHANG *et al.*, 1992).

Des souches isolées chez le chien au Brésil présentent des multi-résistances à l'acéturate de diminazène, la suramine et le chlorure d'isométymidium (ZHANG *et al.*, 1992). Chez le chien et le chat, qui sont très sensibles à l'acéturate de diminazène, le produit est strictement déconseillé par le fabricant (M. WATRIN, Roussel Uclaf, communication personnelle), toutefois son usage chez le chien en Europe ne semble pas trop poser de problèmes (UILENBERG, communication personnelle).



### 1.1.2 Chlorure d'isométymidium

Le chlorure d'isométymidium (Trypamidium<sup>ND</sup>, Samorin<sup>ND</sup>) appartient, comme l'homidium, à la famille des phénanthridines. Depuis son apparition en 1961, le chlorure d'isométymidium est recommandé pour la prophylaxie des trypanosomoses bovines et ovines, en particulier celles à *T. vivax* (FINELLE, 1973).

**Ruminants :** À la dose de 1 mg/Kg de poids vif, chez les bovins, le chlorure d'isométymidium confère une protection de 17 à 28 semaines (TORO *et al.*, 1983 b), avec une moyenne de 5 mois. Pour cette raison il est recommandé en Afrique dans les zones enzootiques et/ou de forte pression parasitaire.

Le produit connaît également des résistances, ainsi des souches nigériennes de *T. congolense* résistantes à l'homidium se sont avérées résistantes au chlorure d'isométymidium, mais ces phénomènes sont rares ; le chlorure d'isométymidium reste le traitement de choix dans la plupart des cas, en particulier lors de résistance à l'acéturate de diminazène pour *T. congolense* et *T. vivax* (NA'ISA, 1967). En Colombie, OTTE (1989) a enregistré des résistances de *T. vivax* au chlorure d'isométymidium. Les tests ELISA de détection de l'isométymidium développés par PEREGRINE *et al.* (1992 c) et EISLER *et al.* (1993) permettront probablement d'évaluer la résistance des souches sur le terrain (EISLER *et al.*, 1994).

Les études pharmacocinétiques réalisées par Rhône Mérieux (non daté) indiquent que la persistance de l'isométymidium dans le plasma est très longue, mais à des doses faibles (0,015mg/ml) qui sont pourtant suffisantes à son efficacité; en revanche l'excrétion dans le lait est très faible (0,002mg/ml). EISLER *et al.* ont établi que la demi vie de l'isométymidium est de 23 jours chez les bovins, et détectent le produit pendant plus de 70 jours. Le délai d'attente de ce produit est fixé à 30 jours pour la viande (délai nul pour le lait). Enfin il n'est décelé aucune activité mutagène ou tératogène (VAN GOOL, communication personnelle).

**Autres espèces :** Chez le cheval, pour le traitement de la trypanosomose à *T. evansi*, l'efficacité et la tolérance du chlorure d'isométymidium ne sont généralement pas satisfaisantes (ZHANG *et al.*, 1992 ; TORO *et al.*, 1983 b) et des résistances croisées ont été enregistrées avec l'acéturate de diminazène et la suramine (ZHANG *et al.*, 1992). Pour le traitement des infections à *T. equiperdum*, bien que les parasites soient sensibles *in vitro*, les essais *in vivo* ne sont pas satisfaisants (ZHANG *et al.*, 1992). Le chlorure d'isométymidium peut être utilisé chez le chien, avec les mêmes réserves que l'acéturate de diminazène.

### 1.1.3 Sels d'homidium

Dérivés voisins de l'isométymidium, le chlorure d'homidium (Novidium<sup>ND</sup>) et le bromure d'homidium (Ethidium<sup>ND</sup>), ont un bon effet curatif et un effet prophylactique de 1 à 3 mois selon les auteurs. Ils sont recommandés pour le traitement des bovins, ovins et caprins contre les trypanosomoses à *T. vivax* et *T. congolense* (Anonyme, 1991 b). L'Ethidium<sup>ND</sup> est utilisé comme curatif de la trypanosomose bovine au Venezuela (ESPINOZA, communication personnelle).

Des résistances à l'homidium ont fréquemment et précocement été trouvées sur le terrain (HAWKING, 1963) ; au Nigeria, après 10 années d'une large utilisation du produit, les résistances à l'homidium se sont parfois accompagnées de résistances à deux autres trypanocides testés: l'acéturate de diminazène et le chlorure d'isométymidium (NA'ISA, 1967 ; CODJIA *et al.*, 1993) ; de même en République Centrafricaine, au Nigeria, au Kenya en Côte d'Ivoire et au Burkina Faso (d'après CODJIA *et al.*, 1993). L'homidium s'est donc avéré susceptible d'engendrer et/ou d'accompagner une polyrésistance aux



principaux trypanocides utilisés chez les ruminants, notamment pour la lutte contre *T. vivax* et *T. congolense*.

D'autre part, le bromure d'ethidium est également connu, par les biologistes moléculaires et les généticiens, sous le nom de bromure d'éthidium, dont la toxicité n'est plus à démontrer. Le bromure d'éthidium est un agent intercalant de l'acide nucléique utilisé pour visualiser l'ADN dans les gels d'agarose. L'activation métabolique de l'éthidium engendre la synthèse d'un puissant mutagène utilisé pour induire des mutations bactériennes (McCANN *et al.*, 1975) ; il a été démontré que cette transformation peut avoir lieu chez les mammifères (MACGREGOR et JOHNSON, 1977). Au laboratoire ce produit est strictement manipulé avec masque et gants.

L'utilisation d'un tel agent sur le terrain n'est pas du tout recommandable. Une étude de toxicité à long terme pour le personnel technique qui manipule le produit (le plus souvent sans précautions puisqu'un médicament n'est pas supposé posséder de telles propriétés), pour le bétail inoculé, et pour le consommateur de viande bovine apparaît tout à fait nécessaire mais n'a jamais été réalisée. Malheureusement l'habitude, l'absence de caractère toxique immédiat, et le peu de produits trypanocides disponibles sur le marché ont rendu l'éthidium « indispensable » aux yeux de nombreux praticiens ou chercheurs en Afrique; ainsi, EISLER suggère de ne pas ébruiter ou dramatiser le caractère toxique de ce produit utilisé sans conséquence néfaste pour l'homme depuis plus de 20 ans (communication personnelle rendue publique par Internet, sur « Tryplink »). Aucune donnée épidémiologique de la toxicité à long terme chez l'homme ou l'animal n'étant disponible, de tels arguments sont purement spéculatifs et n'engagent que leurs auteurs. En outre, la rémanence du produit dans certains organes comme le foie et les reins des bovins est très longue (MURILLA *et al.*, 1993), la disponibilité du produit à la consommation humaine est donc réelle. Pour la prophylaxie des trypanosomoses, des systèmes de libération programmés de bromure d'éthidium ont été évalués chez le lapin (KAGERUKA *et al.*, cités par TOURATIER, 1996) ; compte tenu de sa toxicité, de telles méthodes de distribution du produit sont particulièrement dangereuses.

Il est évident que le bromure d'éthidium n'obtiendrait jamais d'A.M.M. en France ; on peut se demander pourquoi il est encore distribué, voire promu, dans d'autres pays.

#### 1.1.4 Suramine et/ou Quinapyramine

La suramine (suramin sodium, Naganol<sup>ND</sup>), synthétisé en 1922, est un composé uréique efficace contre les trypanosomes du sous-genre *Trypanozoon*; elle est particulièrement recommandée dans le traitement des trypanosomoses du cheval, chez lequel elle est administrée par voie intraveineuse car la tolérance locale est faible. Elle est parfois associée avec la quinapyramine. La suramine est inefficace contre *T. vivax* et *T. congolense* (LEACH et ROBERTS, 1981).

Le sulfate de quinapyramine (Trypacide sulfate<sup>ND</sup>, Antrycide<sup>ND</sup>) est utilisé pour la chimiothérapie, et l'association sulfate/chlorure de quinapyramine (Trypacide Prosalt<sup>ND</sup>, Antrycide Prosalt<sup>ND</sup>) pour la chimioprophylaxie principalement de la trypanosomose du cheval et du dromadaire. La tolérance locale est bonne, la quinapyramine est injectée par voie sous-cutanée.

Chez le cheval, au Venezuela, la quinapyramine semble être le trypanocide curatif et prophylactique le plus efficace contre les infections dues à *T. evansi* (MARTINEZ, 1971, cité par FINELLE, 1973), la protection allant jusqu'à 4 mois. En association avec la suramine, sous forme de « quinapyramine suraminate », à la dose de 4-50 mg/Kg la protection est de 6,5 à 26,5 mois (LOSOS, 1980). Ces deux

produits agissent en inhibant la synthèse de l'ADN et des protéines du parasite (WOO, 1970). L'usage de ces complexes a rapidement été abandonné en raison de leur toxicité.

Chez les bovins, l'utilisation de la quinapyramine est suggérée pour le traitement des infections à *T. vivax* et *T. congolense* (LEACH et ROBERTS, 1981), mais elle est contre-indiquée car elle engendre des résistances croisées avec tous les autres trypanocides: acéturate de diminazène, homidium et chlorure d'isométymidium (PEREGRINE *et al.*, 1995); de plus les réactions locales au point d'injection limitent son utilisation (GARDINER et MAHMOUD, 1990). Enfin, l'apparition de résistance est favorisée par sa lente élimination.

Chez le chien, la tolérance à la quinapyramine est mauvaise (FINELLE, 1973).

### 1.1.5 Mélarsomine

La mélarsomine, plus connue sous son nom déposé de Cymelarsan<sup>ND</sup>, synthétisée en 1983 et commercialisée en 1992, est un des rares trypanocides ayant vu le jour dans les 35 dernières années (BISWAS et HUNTER, 1993). C'est un dérivé trivalent de l'arsenic, le dichlorhydrate de bis (amino Éthylthio) - 4 mÉlamino phénylarsine; son activité trypanocide résulte du blocage de la trypanothione réductase, enzyme nécessaire à la régulation des réactions rédox (thio/disulfure) du parasite (Rhône Mérieux, non daté). Il n'est actif que sur *T. evansi* et *T. brucei*. Son métabolisme étant rapide, il n'a qu'une action curative. Le Cymelarsan<sup>ND</sup> est recommandé chez le dromadaire à la dose de 0,5mg/Kg en intramusculaire profonde; il est efficace notamment sur les parasites résistants à la suramine et à la quinapyramine. Rhône Mérieux projette d'enregistrer le Cymelarsan<sup>ND</sup> pour les équins, les bovins et les buffles (TOURATIER, 1996); toutefois, l'action du Cymelarsan<sup>ND</sup> chez le cheval, pour le contrôle de la trypanosomose due à *T. evansi* n'est que partielle (ROSS, non daté).

### 1.1.6 Autres trypanocides

**Chlorhydrate de trybizine (T<sub>46</sub>)** : ce nouveau trypanocide destiné à la lutte contre *T. evansi* est en cours d'évaluation à Shanghai, notamment chez les buffles et les bovins ; les doses efficaces sont de 0,5mg/kg chez les bovins et 1,5mg/kg chez le buffle, toutefois la toxicité apparaît chez les bovin à la dose de 3mg/kg (SHEN JIE *et al.*, cités par TOURATIER, 1996).

L'Institut Rhône Mérieux n'effectue pas de recherches sur de nouveaux trypanocides (TOURATIER, 1996).

La mise au point de molécules actives mettant à profit les caractéristiques spécifiques de la glycolyse ou l'existence de d'enzymes particulières aux trypanosomes sont en cours. Ainsi, le transporteur moléculaire du glucose des trypanosomes reconnaît également le D-fructose alors que le récepteur humain des érythrocytes ne le reconnaît pas ; cette particularité pourrait être mise à profit pour favoriser l'internalisation de molécules trypanocides (PERIE *et al.*, 1997). D'autre part, l'existence chez les trypanosomes d'enzymes essentielles qui ne sont pas présentes chez les mammifères (voisines de l'écotine et de la phosphoénolpyruvate dikinase) en font des cibles thérapeutiques de choix (BRINGAUD *et al.*, 1997).

Devant les faibles perspectives de la mise en circulation de nouveaux trypanocides, au moins à court terme, il apparaît inquiétant de voir les résistances s'accroître et l'arsenal thérapeutique se réduire, soit par abandon de la production de certains composés anciens, soit par la mise en évidence de la toxicité d'autres. Il est très souhaitable d'encourager la recherche sur de nouveaux trypanocides.



## 1.2 ÉVALUATION DE L'EFFICACITE DE DEUX TRYPANOCIDES SUR DES SOUCHES SUD-AMERICAINES DE *T. VIVAX* ET *T. EVANSI*

Peu de publications sont disponibles sur l'efficacité avérée des trypanocides en Amérique Latine. Dans l'ensemble, les données résultent plus d'observations de terrain que de démonstrations contrôlées.

Les trypanocides les plus usités en Amérique Latine sont l'acéturate de diminazène et le chlorure d'isométymidium. Leur efficacité a donc été évaluée sur des animaux expérimentalement infectés. Les trypanocides retenus dans cette étude visent le traitement des infections par *T. vivax*; toutefois, l'efficacité des produits a également été testée vis-à-vis de *T. evansi* afin de déterminer si les traitements des trypanosomoses à *T. vivax* ont, ou non, un effet sur les infections éventuellement conjointes dues à *T. evansi*. La connaissance de cet effet est importante du point de vue épidémiologique, puisqu'elle détermine la participation des ruminants au réservoir de *T. evansi*.

Une étude complémentaire sur les trypanocides recommandés pour le traitement des infections à *T. evansi* sera nécessaire en complément de celle-ci pour une application dans les zones enzootiques à *T. evansi*.

Le détail de l'évaluation des traitements à l'aide de ces produits chez des moutons et des bovins expérimentalement infectés par l'isolat IL4007 de *T. vivax* est présenté dans la **publication N°9 (annexe 3.1)** intitulée « French Guyanan stock of *Trypanosoma vivax* resistant to diminazene aceturate but sensitive to isometamidium chloride » (DESQUESNES, LA ROCQUE et PEREGRINE, 1995). D'autres souches ont été testées selon les mêmes protocoles, sur des moutons, en Guyane Française; les résultats de l'ensemble de ces évaluations sont présentés ci-après.

### 1.2.1 Matériel et méthode

Les 3 souches de *T. vivax* isolées en Guyane Française, TVFG1 (ou IL4007), TVFG2 et TVFG3, la souche de *T. vivax* (TVVG1) et la souche de *T. evansi* du Venezuela (TEVA1) ont été éprouvées.

Pour chaque souche, un à quatre moutons sont inoculés par voie intraveineuse avec  $10^4$  à  $10^5$  parasites, et prélevés quotidiennement à la jugulaire pour établir la parasitémie (par HCT et comptage entre lame et lamelle) ainsi que le taux d'anticorps (IgG) par ELISA-indirecte en système homologue afin d'évaluer la persistance de l'infection ou son interruption par le traitement. Pour la souche IL4007, 4 veaux Boran ont également été infectés dans des conditions similaires, à l'ILRI (Kenya). Deux à 6 semaines après l'infection les animaux sont traités à l'acéturate de diminazène (Berenil<sup>ND</sup>) en IM, à des doses de 3,5mg/Kg, 7mg/Kg ou 10,5mg/Kg ; ou au chlorure d'isométymidium (Trypamidium<sup>ND</sup> pour les moutons et Samorin<sup>ND</sup> pour les veaux) en IM, à des doses de 0,5mg/Kg pour *T. vivax* et 1 mg/kg pour *T. evansi*.

Pour les traitements au chlorure d'isométymidium contre *T. vivax*, dans certains cas, afin d'évaluer la durée de protection, après une période probatoire de 1 mois, des ré-inoculations de  $10^4$  à  $10^5$  parasites de la souche initiale sont effectuées tous les 15 jours jusqu'à la réapparition éventuelle des parasites dans le sang, ou jusqu'au terme de l'expérience (**figure 45**). Dans les autres cas les animaux ne sont pas réinoculés.

Pour les traitements au chlorure d'isométymidium contre *T. evansi*, au dernier jour du suivi, afin de vérifier si le portage des parasites persiste, un volume de 0,3ml de buffy coat issu de la centrifugation de 5ml de sang hépariné de chaque animal, est inoculé par voie IP à 2 souris C3H. Les souris sont prélevées tous les 3 jours pendant 2 semaines.

### 1.2.2 Résultats

Les figures 43 à 46 indiquent les dates des traitements, les parasitémiées observées, les taux d'anticorps spécifiques et les stress particuliers (stress de transport ou restriction alimentaire). Chez tous les animaux, les suivis sérologiques indiquent une chute du taux d'anticorps après les traitements; cette chute est lente et progressive jusqu'à un taux nul lorsque le traitement est stérilisant (figure 43 d et 45), elle est en revanche passagère et suivie d'une nouvelle augmentation du taux d'IgG spécifiques chez les animaux pour lesquels les traitements n'ont pas été stérilisants; cette augmentation est souvent contemporaine de la réapparition des parasites dans le sang (figure 43 c, figure 44 et 46 b après traitements au Berenil<sup>ND</sup>).

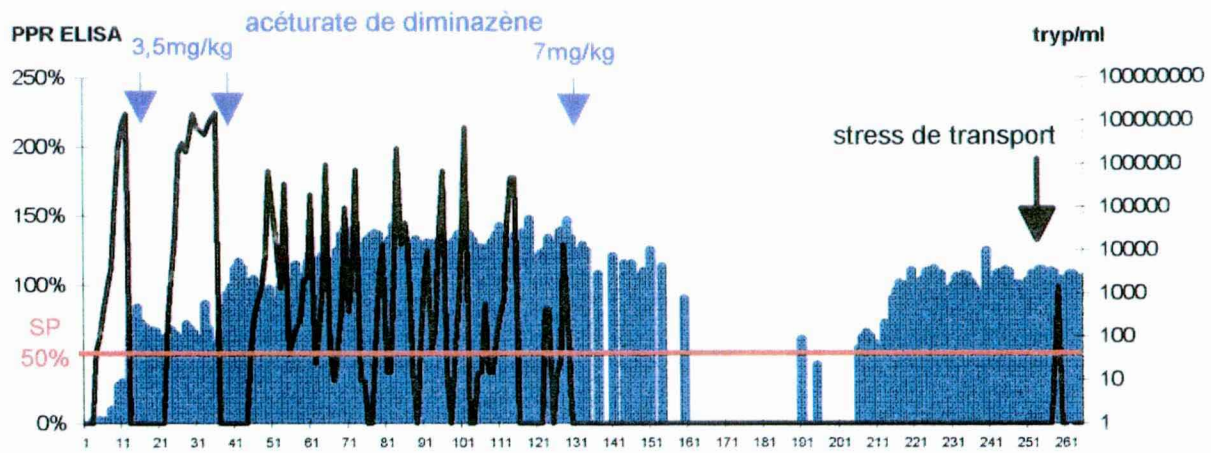
**T. vivax** : dans tous les cas les parasites disparaissent de la circulation le lendemain des traitements à l'acéturate de diminazène pour des périodes allant de 12 à 130 jours ; la résurgence des parasites a été observée spontanément (figures 43 a et 45 pour les 2 premiers traitements, figure 43 b et 44), ou observée à la suite d'un stress de transport (figure 43 a), ou de restrictions alimentaires (figure 43 c et 36 a et b). Toutes les souches testées sont résistantes à l'acéturate de diminazène, à la dose de 7mg/Kg, à l'exception de la souche TVFG3 récemment isolée au cours d'une période inter-épizootique (figure 41 d); toutefois, dans ce cas, la sensibilité n'a pu être évaluée que chez un seul animal, il sera nécessaire de confirmer ce résultat par d'autres essais. A la figure 43 d sont représentés les taux d'anticorps dirigés contre *T. vivax* et *T. evansi* ; il est notable que le PPR *evansi* chute plus rapidement que le PPR *vivax* ; cette observation a été commentée au chapitre 3 (§2.6.3). Seule la souche TVFG1 a été testée à la dose de 10,5mg/Kg, la résistance a également été enregistrée (figure 43 b).

Les parasites ne sont plus observés à la suite des traitements au chlorure d'isométymidium, et les sérodiagnostics deviennent négatifs dans les 3 mois suivants, ce qui signe l'absence de portage inapparent (figure 44). Le chlorure d'isométymidium a été stérilisant (TVFG1, TVFG2, TVVG1). La durée de protection, évaluée par ré-inoculations itératives des mêmes parasites, a été de 4,5 mois (TVFG2) et 5 mois (TVFG1) (figure 45) . La prophylaxie assure donc une protection supérieure à 4,5 mois.

**T. evansi** : A J 70 pour le mouton 14, et J80 pour le mouton 15, les animaux ont reçu une injection d'acéturate de diminazène à la dose de 7mg/KG en IM. Les parasites disparaissent de la circulation et les taux d'anticorps chutent, passant même dans un cas sous le SP (figure 46 a), mais ils se stabilisent ensuite aux alentours de 30-40% de PPR, indiquant la persistance probable de l'infection. Les parasites sont réapparus dans un cas, spontanément, 60 jours après le traitement (mouton 15), dans l'autre, 150 jours plus tard, sous l'effet des restrictions alimentaires (mouton 14) (figure 46). La souche TEVA1 est donc résistante à l'acéturate de diminazène à la dose usuellement recommandée pour le contrôle de *T. vivax*.

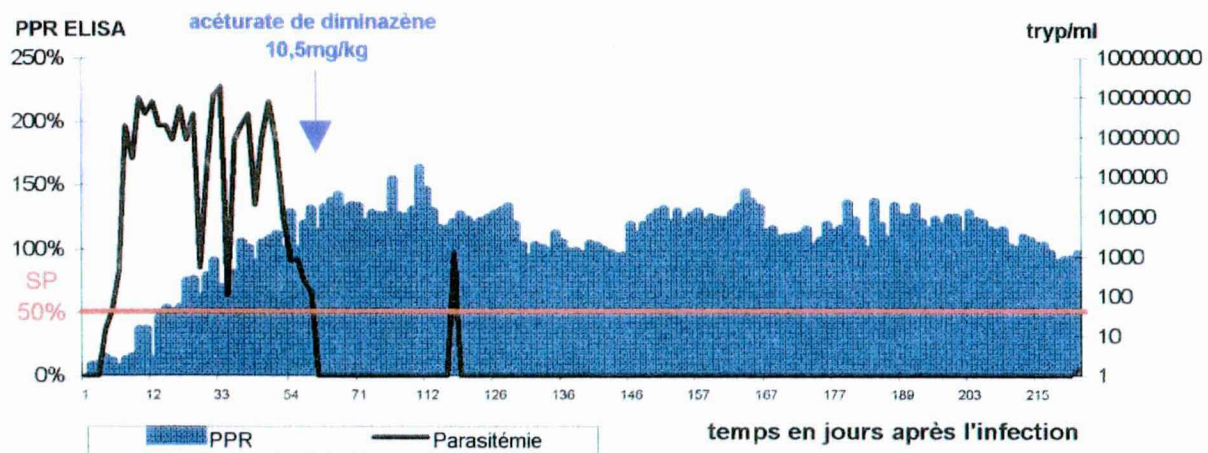
Avec le chlorure d'isométymidium (1 mg/Kg), dès le lendemain du traitement les parasites ne sont plus décelables dans le sang, et, malgré des restrictions alimentaires prolongées, le parasite n'est plus réapparu pendant les 125 (mouton 14) et 135 jours de suivi (mouton 15). L'expérience a dû être interrompue pour des raisons techniques. Les ELISA-indirectes *T. evansi* ont en revanche indiqué des taux d'anticorps stables (30-50%) (figure 46) ; il est donc probable que les animaux soient restés porteurs aparasitémiés. Aucun parasite n'a été visible chez les souris inoculées avec le sang de ces 2 animaux. La persistance de l'infection n'a donc pu être établie avec certitude, mais les résultats sérologiques sont en sa faveur. L'ensemble des résultats est résumé au tableau XX.





**Commentaire :** Résistance à l'acéturate de diminazène à 3,5 et 7 mg/kg (IM) ; à la suite du 3<sup>ème</sup> traitement, le PPR chute, puis réaugmente, révélant la persistance de l'infection. La résurgence d'une parasitémie décelable est provoquée 130 jours après le traitement par un stress de transport.

**Figure 43 a :** Parasitémie, traitements à l'acéturate de diminazène, et réponse en ELISA-indirecte *T. vivax* du mouton N°1, infecté par TVFG1 (*T. vivax* de Guyane Française)

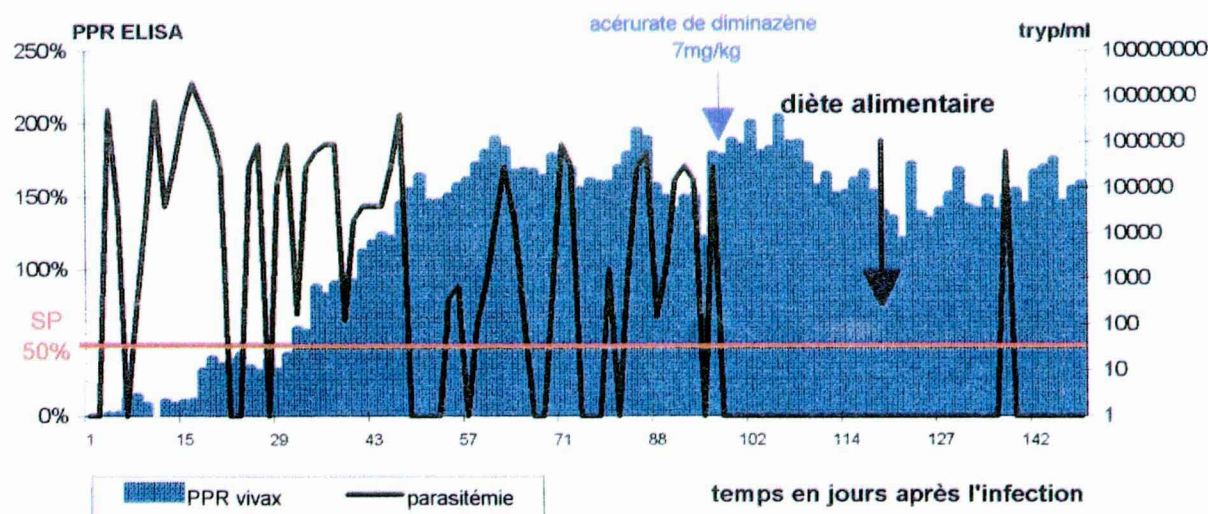


**Commentaire :** Résistance à l'acéturate de diminazène à la dose de 10,5mg/kg (IM); la persistance des anticorps (PPR stables après le traitement) et une brève résurgence de la parasitémie (J119) révèlent le portage principalement inapparent du parasite.

**Figure 43 b :** Parasitémie, traitement à l'acéturate de diminazène, et réponse en ELISA-indirecte *T. vivax* du mouton N°7, infecté par TVFG1 (*T. vivax* de Guyane Française)

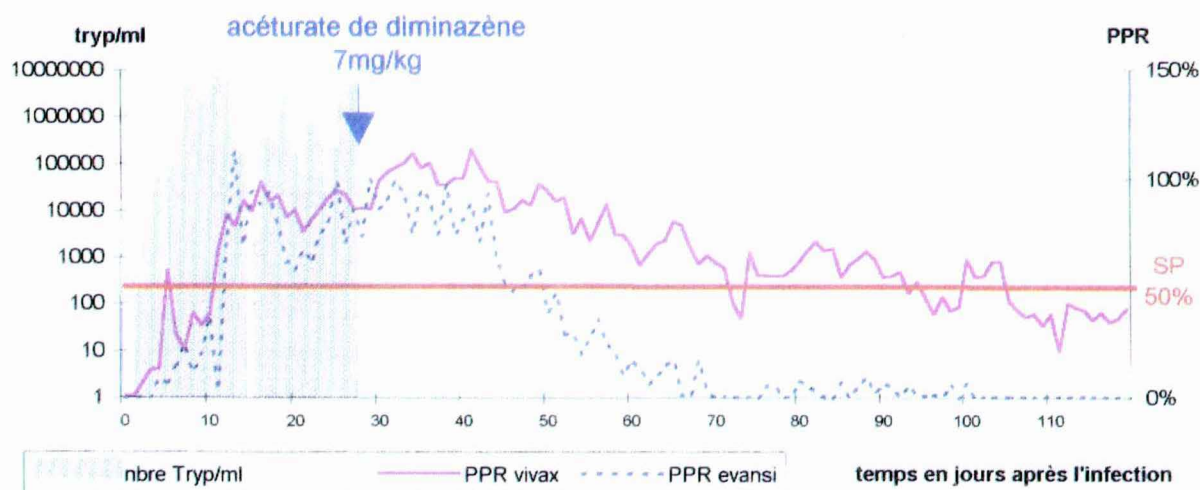
**Légende :** les résultats des ELISA *T. vivax* sont exprimés en PPR ; SP = seuil de positivité de l'ELISA-indirecte *T. vivax*, indiqué par une barre horizontale ; les parasitémies sont représentées en échelle logarithmique

**Figure 43 :** Parasitémies, traitements à l'acéturate de diminazène et réponses en ELISA-indirecte *Trypanosoma* spp. de moutons infectés par des *T. vivax* de Guyane Française ou du Venezuela



**Commentaire :** Résistance à l'acéturate de diminazène à la dose de 7mg/kg ; le portage inapparent est révélé par la persistance des anticorps (PPR stable après le traitement), et la résurgence d'une parasitémie décelable induite par une diète alimentaire de 20 jours.

**Figure 43 c :** Parasitémie, traitement à l'acéturate de diminazène, et réponse en ELISA-indirecte *T. vivax* du mouton N°12 infecté par TVVG1 (*T. vivax* du Venezuela)



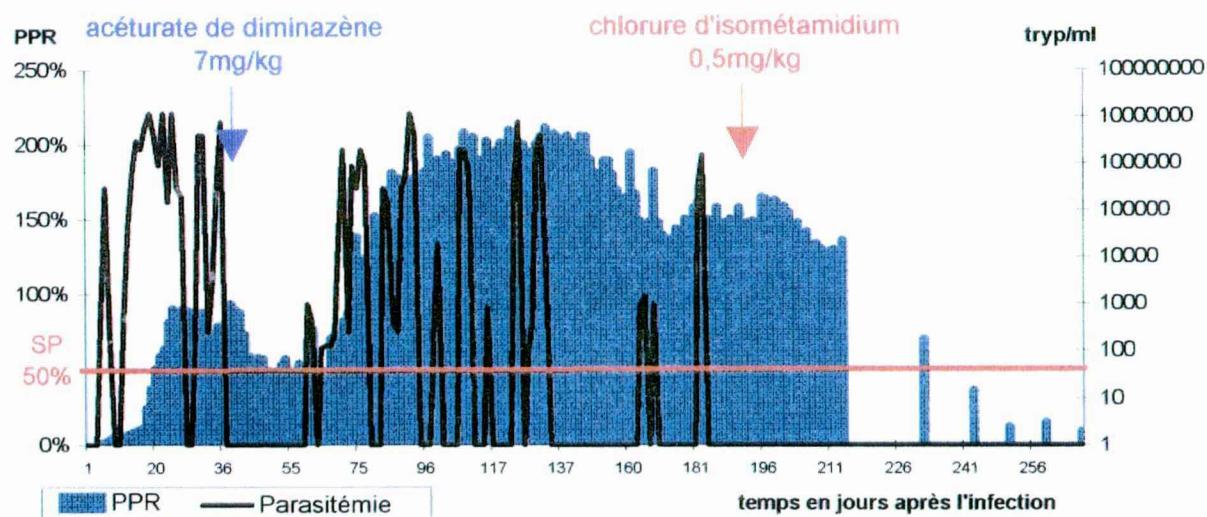
**Commentaire :** la chute des PPR en ELISA-indirecte *T. vivax* et *T. evansi* indique que le traitement a été stérilisant; les PPR « vivax » passent sous le SP environ 80 jours après le traitement, et les PPR « evansi » passent sous le SP seulement 20 jours après le traitement.

**Figure 43 d :** Parasitémie, traitement à l'acéturate de diminazène, et réponses en ELISA-indirecte *T. vivax* et *T. evansi* du mouton N°11 infecté par TVFG3 (*T. vivax* de Guyane Française)

**Légende :** les résultats des ELISA sont exprimés en PPR (pourcentage de positivité relatif), les parasitémies sont représentées en échelle logarithmique ; SP = seuil de positivité de l'ELISA-indirecte *T. vivax*, indiqué par une barre horizontale.

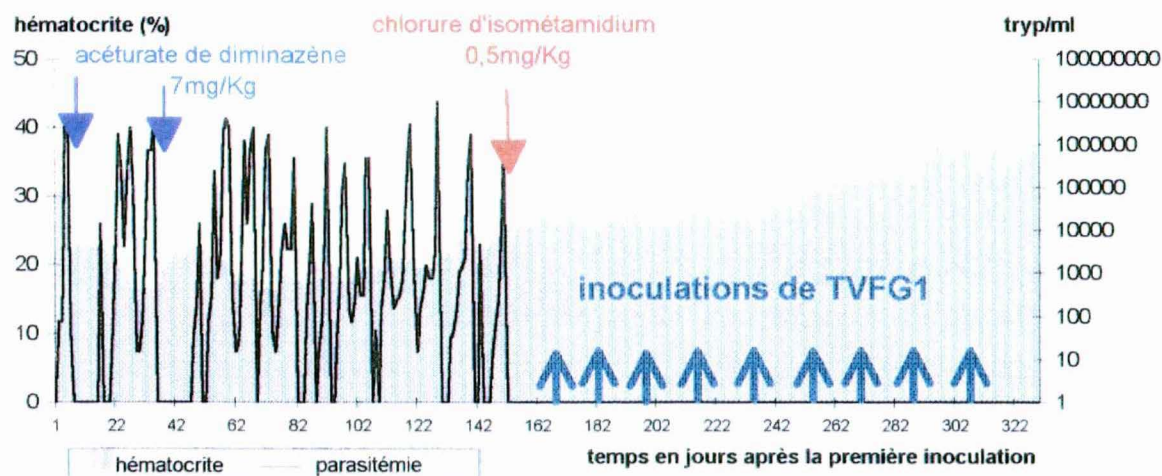
**Figure 43 :** Parasitémies, traitements à l'acéturate de diminazène, et réponses en ELISA-indirectes *Trypanosoma* spp. de moutons infectés par des *T. vivax* de Guyane Française et du Venezuela





**Commentaire :** la résistance des parasites à l'acéturate de diminazène (7mg/kg en IM) est confirmée par la technique de parasitologie et par l'ELISA-indirecte; en revanche le traitement au chlorure d'isométymidium engendre la disparition définitive des parasites et la chute du taux d'anticorps spécifiques. Aux doses utilisées, la souche est donc résistante à l'acéturate de diminazène, mais sensible au chlorure d'isométymidium.

**Figure 44: Parasitémie, traitements à l'acéturate de diminazène et au chlorure d'isométymidium, et réponse en ELISA-indirecte *T. vivax* du mouton N°9 infecté par TVFG2**



**Commentaire :** les dates des ré-inoculations de la souche (TVFG1) sont indiquées par les flèches vertes ; après traitement au chlorure d'isométymidium (Trypamidium<sup>ND</sup>) ces ré-inoculations sont sans effet ; le chlorure d'isométymidium a donc procuré une protection supérieure à 150 jours. Il faut toutefois noter que, dans cette expérience, les 9 inoculations itératives ont pu stimuler l'immunité de l'animal et que l'absence de sensibilité observée peut résulter à la fois de la chimioprophylaxie et de l'immunité induite.

**Figure 45 : Parasitémie, traitements, et hématocrite du mouton N°7, infecté par TVFG1, et programme de ré-inoculations de TVFG1**

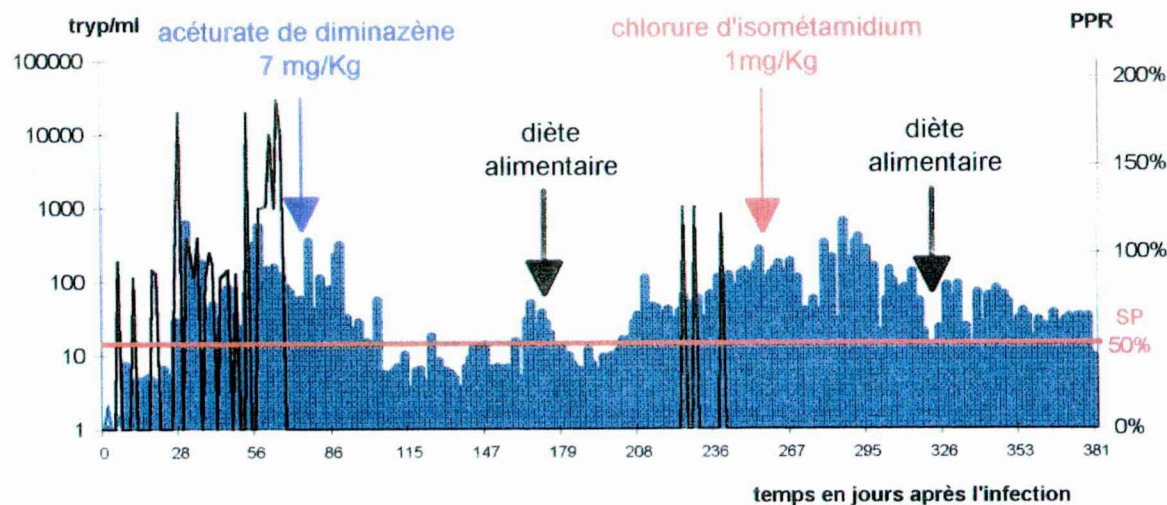


Figure 46 a : Mouton N° 14

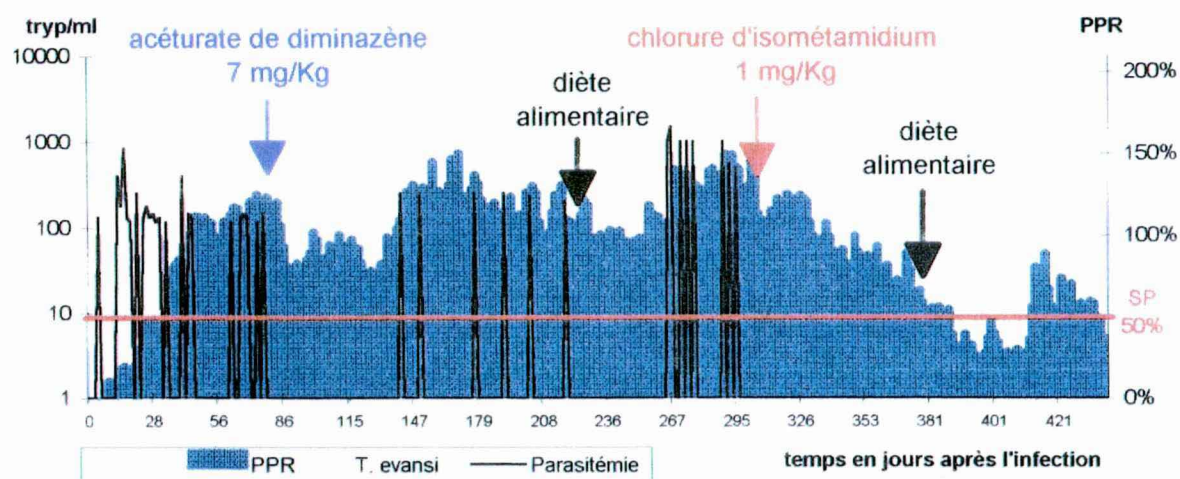


Figure 46 b : Mouton N° 15

**Légende :** la réponse à l'ELISA-indirecte *T. evansi* est exprimée en pourcentage de positivité relatif (PPR) ; le seuil de positivité (SP) de 50% est représenté par une barre horizontale.

#### Commentaires :

A la suite des traitements à l'**acéturate de diminazène**, on observe la disparition des parasites et une chute des PPR, dans un cas (mouton N°14) en-dessous du SP, ce qui pourrait faire conclure à l'efficacité du traitement ; en réalité, après une période de diète alimentaire d'environ 60 jours, les PPR remontent et les parasites sont à nouveau observés.

Après les traitements au **chlorure d'isométymidium** la parasitémie n'a pu être induite après 60 jours de diète alimentaire, mais la persistance des anticorps est en faveur de la résistance de la souche au traitement. Un suivi de plus longue durée aurait été nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

Figure 46 : Parasitémies, traitements, et réponses en ELISA-indirecte *T. evansi* de 2 moutons infectés par *T. evansi* (TEVA1)



TABLEAU XX: SENSIBILITE/RESISTANCE DE PLUSIEURS SOUCHES DE *T. VIVAX* ET *T. EVANSI* D'AMERIQUE DU SUD A L'ACETURATE DE DIMINAZENE ET AU CHLORURE D'ISOMETAMIDIUM, DUREE DE PROTECTION

	acéturate de diminazène 3,5mg/Kg	acéturate de diminazène 7mg/Kg	acéturate de diminazène 10,5mg/Kg	chlorure d'isométamidium 0,5 à 1 mg/Kg*	Durée de protection
TVFG1 (moutons)	résistant	résistant	résistant	<b>sensible</b>	> 5 mois
TVFG1 (veaux)	non testé	résistant	non testé	<b>sensible</b>	non déterminée
TVFG2 (moutons)	non testé	résistant	non testé	<b>sensible</b>	> 4,5 mois
TVFG3 (moutons)	non testé	<b>sensible</b>	non testé	non testé	non déterminée
TVVG1 (moutons)	non testé	résistant	non testé	<b>sensible</b>	non déterminée
TEVA1 (moutons)	non testé	résistant	non testé	résistant ?	non déterminée

\* 0,5 mg/kg pour les traitements contre *T. vivax* et 1 mg/kg pour les traitements contre *T. evansi*.

### 1.2.3 Discussion-conclusion

#### 1.2.3.1 Acéturate de diminazène

Le traitement à l'acéturate de diminazène provoque la chute immédiate de la parasitémie en-dessous du seuil de détection des techniques parasitologiques ; il n'a cependant été observé avec *T. vivax* et *T. evansi* qu'un seul traitement véritablement curatif (TVFG3, **figure 46 d**) sur les 5 souches locales testées au laboratoire. Le traitement semble favoriser le rétablissement clinique et l'immunisation des animaux (par la libération massive d'antigènes) puisqu'il est fréquemment suivi d'un portage asymptomatique et aparasitémique.

Dans les cas de résistance avérée, les parasites redeviennent détectables entre 12 et parfois plus de 130 jours après le traitement, et dans certains cas de manière très fugace. Pour établir si un trypanocide est stérilisant ou non, il apparaît donc nécessaire de réaliser des suivis quotidiens pendant au moins 4 mois, assortis d'examens sérologiques de recherche d'anticorps. Une sérologie négative au terme du suivi permet de confirmer que l'animal n'est plus porteur du parasite.

L'existence de résistances chimiques à l'acéturate de diminazène est hautement probable; elles peuvent être innées, ou induites par l'usage d'imidocarbe, utilisé dans les mêmes régions pour le traitement des babésioses ou de l'anaplasmose (A. PEREGRINE, communication personnelle).

Toutefois, la résistance chimique n'ayant pas été démontrée *in vitro*, il est également possible que certains parasites échappent à l'action du trypanocide du fait de leur localisation extra-vasculaire, dans un compartiment de l'organisme peu accessible aux trypanocides. Cette hypothèse expliquerait que dans certains cas un traitement puisse être efficace (lorsque le parasite n'est pas présent dans un tel refuge) et non dans d'autres. De tels compartiments ont été identifiés chez le buffle pour *T. evansi* (espaces de Virchow-Robin du cerveau) et chez la chèvre pour *T. vivax* (système nerveux central et humeur aqueuse de

l'oeil) ; d'autre part, chez la souris, il a été démontré que les trypanosomes qui réapparaissent spontanément après un traitement à l'acéturate de diminazène étaient sensibles au produit (WHITELAW *et al.*, 1988). Dans ce cas l'hypothèse est que les parasites situés dans un compartiment extra-vasculaire échappent à l'action du traitement, puis regagnent la circulation, provoquant la résurgence d'une souche pourtant sensible à l'acéturate de diminazène.

La biodisponibilité de l'acéturate de diminazène a été étudiée chez la chèvre par PEREGRINE *et al.* (1992 b); sa concentration dans le liquide céphalorachidien et dans la lymphe n'atteint respectivement que 23% et 32% de celle du plasma. Il est donc possible que les trypanosomes présents dans ces compartiments extra-vasculaires survivent au traitement, car ils sont exposés à des doses insuffisantes de trypanocide.

Quel que soit le mécanisme qui prévaut à cette résistance apparente, le fait est que le traitement n'est pas stérilisant, et qu'à sa suite, un portage chronique est fortement probable; il pourrait même être favorisé par le traitement qui provoque la libération massive d'antigènes parasitaires ; ainsi, dans nos expériences, des traitements itératifs à l'acéturate de diminazène aboutissent fréquemment à une phase de portage aparasitémique traduisant l'immunité des animaux.

Tout en améliorant en apparence la situation sur le terrain, l'utilisation de l'acéturate de diminazène pourrait entraîner l'établissement du portage chronique de *T. vivax* et *T. evansi*, et, par suite, leur établissement à l'état enzootique.

L'acéturate de diminazène présente donc trois inconvénients, il ne supprime pas l'infection, pourrait favoriser le portage chronique, et possède une forte rémanence sans effet prophylactique.

Ses avantages sont la destruction immédiate de la plupart des parasites, l'amélioration clinique qui en découle, et l'induction d'une certaine immunité accompagnée d'un portage asymptomatique lorsque celui-ci est souhaité. Il peut donc être utilement appliqué dans les zones d'enzootie.

D'après l'étude de STEVENSON (1995), seul l'acéturate de diminazène est disponible au Brésil, le consultant signale qu'il y a urgence d'introduire de nouveaux produits depuis les épizooties de trypanosomose de 1994-1995.

### **1.2.3.2 Chlorure d'isométymidium**

Le chlorure d'isométymidium a été employé avec succès à la dose de 0,5mg/Kg chez des bovins et des moutons expérimentalement infectés avec des souches de *T. vivax* résistantes à l'acéturate de diminazène. Sa rémanence est très longue, en témoigne son effet prophylactique de plusieurs mois vérifié chez les moutons. L'évaluation sur le terrain chez les bovins a également donné satisfaction (chapitre 3, §2.4). Son utilisation dans les foyers épizootiques sera particulièrement utile si l'on souhaite enrayer le foyer et éviter que l'infection ne passe à l'état enzootique.

La législation française n'impose qu'un délai d'abattage de 30 jours, reposant sur les limites maximales des résidus tels qu'ils ont été indiqués par le JECFA<sup>19</sup> en sa séance du 9 et 18 juin 1992. Il faut souligner que dans le cas du chlorure d'isométymidium la législation est en-deçà de la rémanence prouvée



du trypanocide qui est de plusieurs mois comme l'indiquent les observations de PEREGRINE *et al.* (1992 a), et comme le confirme la détection du produit chimique par technique ELISA (EISLER *et al.*, 1996). Puisque l'activité trypanocide dépasse 4 à 5 mois, il serait préférable de recommander un délai d'attente de 5 mois au moins.

La souche de *T. evansi* du Venezuela s'est avérée peu sensible à l'acéturate de diminazène et au chlorure d'isométymidium, d'autres trypanocides devront être éprouvés sur cette souche afin de proposer un traitement stérilisant (suramine et mélarsomine).

### 1.3 DISCUSSION SUR LA STRATÉGIE D'UTILISATION DES TRYPANOCIDES

On peut distinguer la stratégie médicale qui concerne les animaux susceptibles d'être malades et consiste à leur administrer des traitements curatifs, ou à prévenir leur infections à l'aide de chimioprophylactiques, et la stratégie épidémiologique, qui concerne la population parasitaire, et qui peut consister soit à éradiquer les parasites, soit à prévenir la création de réservoirs. Ces stratégies sont discutées et des recommandations sont proposées à la lumière des résultats précédents.

#### 1.3.1 Stratégie médicale

Le recours aux trypanocides nécessite une justification médicale et/ou économique, il est réservé au contrôle de trypanosomes pathogènes, c'est à dire à des associations hôte/parasite dans lesquelles la pathogénicité est forte. En outre, la tolérance de chaque espèce conditionne l'usage des trypanocides. Ainsi, et par exemple, le chlorure d'isométymidium est davantage indiqué pour le contrôle de *T. vivax* chez les bovins, et la suramine pour celui de *T. evansi* chez les équidés.

##### 1.3.1.1 Contrôle de *T. vivax* chez les bovins

**Zone d'enzootie :** En Afrique, la pression vectorielle est parfois extrêmement élevée quasiment tout au long de l'année, du fait de l'abondance des glossines. Les souches parasitaires véhiculées par les glossines ont un grand polymorphisme génétique, lié à la fois aux cycles réalisés chez le vecteur et à leur diversité naturelle, conséquence d'un réservoir sauvage et domestique très varié. Dans les zones dites « enzootiques », les animaux domestiques sont donc exposés à des inoculations nombreuses et variées, de telle sorte que leur système immunitaire est souvent débordé par ces multi-infections multi-spécifiques. De plus, les animaux sont exposés à plusieurs espèces de trypanosomes ; la totalité de ces stimulations dépasse les capacités du système immunitaire. Il s'ensuit que dans les régions où les trypanosomoses sont enzootiques et la pression vectorielle élevée, la chimioprophylaxie est quasiment obligatoire et doit être appliquée continûment. Sur ce continent, on doit donc recommander une chimioprophylaxie permanente en zone d'enzootie.

La situation est très différente en Amérique Latine. Dans les zones d'enzootie, la pression vectorielle peut également être de manière saisonnière, voire continûment, très élevée, mais la variabilité des souches véhiculées est probablement faible puisque les vecteurs ne sont que des transporteurs mécaniques. Les animaux sont donc exposés à des multi-infections, mais, le plus souvent, de nature mono-spécifique. Dans ces conditions, leur immunisation naturelle peut s'établir graduellement, et sera favorisée par des traitements trypanocides curatifs sporadiques (acéturate de diminazène) chez les animaux les plus

sensibles. En outre il a été observé que les traitements au chlorure d'isométylmidium ne favorisent pas l'immunisation du bétail (PEREGRINE *et al.* 1986), alors que les traitements à l'acéturate de diminazène semblent la favoriser.

En Amérique Latine, il est en conséquence préférable d'employer la chimiothérapie en zone d'enzootie. Sur ce continent, les traitements à l'acéturate de diminazène sont recommandables pour le contrôle de la trypanosomose bovine enzootique, sauf si un programme d'éradication était décidé, auquel cas le recours aux chimioprophylactiques reviendrait de droit.

**Zone sporadique ou épizootique :** En Afrique, lorsque la trypanosomose est sporadique ou épizootique, on recommande généralement la chimiothérapie, à l'aide, par exemple, de l'acéturate de diminazène, pour contrôler une infection passagère ou très saisonnière (saison des pluies le plus souvent). Dans ces circonstances il est supposé et attendu que le traitement soit stérilisant. Sur ce continent, on recommande donc la chimiothérapie en cas d'épizooties.

En Amérique Latine, lorsque la trypanosomose sévit de manière sporadique ou épizootique dans des zones géographiques où vivent des troupeaux majoritairement indemnes, dès qu'un foyer de trypanosomose est identifié, l'interruption de la transmission mécanique et la prévention de la généralisation de l'infection par la protection de l'ensemble du cheptel doit être réalisé avec un produit stérilisant, et, pour des raisons matérielles, puisqu'il est le plus souvent impossible d'assurer un tel traitement de manière instantanée, il est recommandable d'utiliser un produit ayant une action retard. Dans la pratique il s'agit des mêmes produits que ceux utilisés en Afrique sous le terme de « chimioprophylactiques ».

En Amérique Latine il est donc recommandable d'employer les chimioprophylactiques en cas d'épizooties.

#### **1.3.1.2 Contrôle de *T. evansi* chez les chevaux**

L'épidémiologie de *T. evansi* en Amérique Latine est comparable à celle généralement observée en Afrique. Dans le Nouveau Monde, *T. evansi* possède un vaste réservoir sauvage, et deux types de vecteurs, insectes et vampires, dont l'un peut être constamment contaminant (vampire). Toutefois, la maladie semble le plus souvent sévir sous forme épizootique chez les chevaux; HOARE (1965) suggérait que les vampires constituaient un réservoir à l'origine de foyers épizootiques qui seraient étendus par les Tabanidés. Dans ces conditions il est recommandable de protéger les animaux sensibles à l'aide de chimioprophylactiques (association sulfate/chlorure de quinapyramine) dès qu'un foyer est déclaré, d'autant que la pathogénicité observée récemment, par exemple au Brésil, est très forte.

#### **1.3.2 Stratégie épidémiologique**

Lorsqu'on s'intéresse à réduire la population parasitaire, il convient de mettre en oeuvre des mesures de lutte qui dépassent le simple cadre de la protection individuelle d'un troupeau.

##### **1.3.2.1 Contrôle de *T. vivax* chez les bovins**

La stratégie épidémiologique de lutte contre la trypanosomose bovine en Amérique Latine est gouvernée d'une part par l'absence de réservoir du parasite autre que les ruminants domestiques eux-mêmes, et, de l'autre, par le faible rayon d'action des Tabanidés (200-300m). Dans le cas d'élevages bien isolés, chaque éleveur pourra pratiquement déterminer sa politique vis-à-vis de la trypanosomose bovine.



Dans le cas contraire, il devra faire en sorte de minimiser les effets de la trypanosomose et favoriser la cohabitation hôte/parasite.

**Conduite à tenir en zone instable (enzoo-épizootique) :** Si l'objectif est de laisser ou de favoriser l'évolution vers un état enzootique, seuls les animaux cliniquement affectés par la maladie recevront un traitement curatif (acéturate de diminazène); chez les autres le passage de l'infection à l'état chronique et, le plus souvent, asymptomatique, sera compatible avec un état enzootique. Cet état n'est souhaitable que si l'imminence de l'extension et de l'implantation du parasite semblent inévitables pour des raisons non contrôlables.

Si l'objectif fixé est de réduire à son minimum l'implantation du parasite, étant donné que, jusqu'à preuve du contraire, *T. vivax* ne possède pas de réservoir autre que les animaux domestiques, il est tout à fait possible et souhaitable d'empêcher le parasite de passer à l'état enzootique. Pour ce faire, la chimioprophylaxie (chlorure d'isométymidium), seule technique compatible avec l'éradication du parasite, sera appliquée à tous les ruminants de l'élevage ainsi qu'aux animaux nouvellement introduits (dans les conditions pratiques de traitement sur le terrain, deux traitements à la dose de 1mg/kg à 3 mois d'intervalle sont recommandés afin de garantir que tout animal aura reçu au moins une fois un traitement stérilisant).

**Eradication de *T. vivax* ?** On ne connaît pas, à ce jour, de réservoir sauvage avéré de *T. vivax*, ni de résistance au chlorure d'isométymidium en Amérique Latine. L'éradication de *T. vivax* est donc théoriquement possible en ayant recours à ce produit, et à condition de traiter tous les ruminants. Il serait toutefois nécessaire de vérifier que le cheval ne peut agir comme réservoir de *T. vivax*. Dans certains pays d'Amérique du Sud qui pratiquent l'élevage extensif, il est possible que des ongulés sauvages (notamment les cerfs) jouent le rôle de réservoir, comme le suggère SILVA (communication publique sur Internet, « Tryplink »). Dans ce cas l'éradication de *T. vivax* ne serait pas envisageable.

#### 1.3.2.2 Contrôle de *T. evansi* chez les ruminants

Les associations hôte/parasite qui ne sont pas fortement pathogènes pour l'hôte, comme *T. evansi* chez les bovins, ne sont généralement pas prises en compte dans la lutte contre les trypanosomes. Si, en effet, leurs impacts économique et médical directs sont faibles, leurs conséquences épidémiologiques ne le sont pas, puisque c'est un des mécanismes par lesquels les parasites peuvent s'implanter dans de nouveaux réservoirs domestiques. Ainsi, il n'est pas signalé ou recommandé de traitement contre *T. evansi* chez les bovins. Puisque la plupart des souches de *T. evansi* sont résistantes à l'isométymidium (TORO *et al.*, 1983 b), les bovins qui le reçoivent (pour la prophylaxie de *T. vivax*) peuvent, lorsqu'ils sont également infectés par *T. evansi*, devenir des réservoirs de ce parasite, créant ainsi une menace permanente pour le cheptel équin.

L'utilisation de la quinapyramine, qui permettrait de traiter les ruminants à la fois contre *T. vivax* et *T. evansi* est totalement déconseillée chez les ruminants puisqu'elle provoque des résistances croisées avec les autres trypanocides généralement utilisés dans ces espèces pour le contrôle de *T. vivax*; en outre, les souches résistantes à l'acéturate de diminazène présentent fréquemment des résistances croisées avec la quinapyramine (PEREGRINE et MAMMAN, 1993).

La seule possibilité de traiter les bovins à la fois contre *T. vivax* et *T. evansi* serait d'associer deux trypanocides tels le chlorure d'isométymidium et la mélasomine. Outre les éventuels problèmes de toxicité, et de multi-résistance qu'elle pourrait engendrer, cette association risque d'être économiquement insupportable. En conséquence, il est probable que les ruminants participent au rôle de réservoir de *T. evansi*. En faveur de cette hypothèse, LA ROCQUE (1994) et VAN VLAENDEREN (1996) ont obtenu des PCR positives avec les amorces spécifiques de *T. evansi* sur des échantillons sanguins de bovins du Suriname, bien que la derengadera ne soit pas décrite dans le pays.

**Remarque:** Le chien peut de même agir comme réservoir, et, étant donné sa cohabitation dans les élevages, et l'absence fréquente de traitement dans cette espèce, il peut constituer un excellent support au maintien et à la dissémination de *T. evansi*. Ainsi, les 4 chiens prélevés lors d'une récente épizootie dans le Pantanal (Brésil) étaient tous porteurs du parasite (SILVA et al., 1995 c).

#### 1.3.2.3 Contrôle de *T. vivax* chez les chevaux

L'existence de *T. vivax* dans cette espèce n'a jamais été démontrée en Amérique Latine, des enquêtes sont nécessaires pour établir cette éventualité, et ses conséquences sur le rôle éventuel des chevaux comme réservoirs de *T. vivax*.

#### 1.3.2.4 Contrôle de *T. evansi* chez les chevaux

Le chlorure d'isométymidium et l'acéturate de diminazène ne sont pas efficaces contre *T. evansi* chez le cheval. L'efficacité de la mélasomine, de la suramine, et de la quinapyramine devra être évaluée sur les souches sud-américaines du parasite; les premiers résultats obtenus sur des souches brésiliennes par ZHANG et al. (1992) et sur les souches vénézuéliennes par MARTINEZ (1971, cité par FINELLE 1973) n'ont pas permis de détecter de résistance.

**Eradication de *T. evansi* :** Pour *T. evansi*, l'existence d'un vaste réservoir sauvage compromet toute tentative d'éradication. On devra orienter la lutte vers la protection chimique et le contrôle des agents de transmission.

### 1.3.3 Conclusion

Dans la pratique, les contraintes économiques et médicales prévalent largement sur les contraintes épidémiologiques, aussi ne sont traités que les animaux pour lesquels la justification économique directe est suffisante. Au demeurant, il n'existe pas de traitement idéal qui permettrait le contrôle simultané de *T. vivax* et *T. evansi* à la fois chez les ruminants domestiques, les chevaux et les chiens.

Ici encore, l'absence de diagnostic spécifique des infections *T. vivax* / *T. evansi* fait cruellement défaut, et limite la réflexion stratégique.

Pour la Guyane Française, il est préconisé de traiter les animaux entrant dans le Département à l'aide de produits stérilisants à la fois contre *T. vivax* et *T. evansi*. L'isométymidium et la quinapyramine (ou la suramine) pourraient être associés pour ce traitement à l'entrée des animaux dans le pays.



## 2 PERSPECTIVES DE LUTTE IMMUNOLOGIQUE CONTRE LES TRYPANOSOMES

Outre les traitements chimiques curatifs ou prophylactiques, l'immunisation des hôtes contre les parasites est un des moyens les plus élégants de contrôler les parasitoses. Dans le cas des trypanosomoses ces principes se heurtent à des difficultés inhérentes à leur biologie.

L'immunisation de mammifères contre des trypanosomes pathogènes a pu être obtenue par infection puis traitement curatif, mais la protection n'est généralement efficace que dans les épreuves homologues et quand la quantité de parasites inoculés est faible, chez *T. congolense* (OTESILE et TABEL, 1987) ou *T. evansi* (DAVILA *et al.*, 1996) ; en revanche la protection n'est pas efficace lors de ré-inoculations hétérologues (LOSOS, 1986).

L'immunisation des mammifères contre les antigènes de surface des trypanosomes a effectivement lieu spontanément au cours des infections ; elle se traduit notamment par la synthèse d'immunoglobulines qui provoquent la destruction des parasites, toutefois, le changement cyclique des antigènes de surface des trypanosomes leur permet d'échapper aux défenses immunitaires.

Les perspectives de vaccination contre les trypanosomes ont longtemps été délaissées considérant la très grande variabilité de leurs antigènes de surface. En effet, pour une souche donnée, il faudrait pouvoir immuniser les hôtes contre l'ensemble des antigènes de surface qui constituent le répertoire antigénique de cette souche, et, dans un secteur géographique donné, il faudrait immuniser contre l'ensemble des souches présentes. De plus la recombinaison éventuelle des gènes au sein d'une espèce, et l'existence conjointe de diverses espèces de trypanosomes multiplient d'autant la multi-valence de tels vaccins. Il n'est pas concevable de vacciner les animaux contre les trypanosomoses sur de tels principes.

A défaut de pouvoir contrôler les parasites en immunisant les hôtes contre des antigènes variables, l'immunisation contre des antigènes non variables du parasite est une autre voie de recherche. L'étude comparative des réponses immunitaires à l'infection par *T. congolense* chez des bovins trypanotolérants (*Bos taurus*, N'Dama) et des bovins trypanosensibles (*Bos indicus*, Boran), menée par AUTHIE *et al.* (1993 a), a conduit les auteurs vers l'analyse des propriétés de deux protéines d'intérêt majeurs que sont la HSP 70 (« heat shock protein », poids moléculaire 69-70 KDa) (AUTHIE *et al.*, 1993 a et c) et la CP 33 (« cystéine protéase », poids moléculaire 33 kDa) (AUTHIE *et al.*, 1993 a, b et c). La HSP 70 induit la synthèse d'IgM puis d'IgG chez les animaux résistants, alors que seules des IgM sont induites chez les animaux sensibles ; en outre certains épitopes de la protéine ne sont reconnus que par les animaux résistants. Lors des primo-infections par *T. congolense*, la CP 33 (ou congopain) induit des niveaux d'immunoglobulines (IgG1) plus élevés chez les animaux résistants que chez les animaux sensibles.

Ces deux protéines seraient à l'origine de certains effets pathogènes des trypanosomes, que seuls les animaux trypanotolérants contrôlèrent. Le principe de la recherche entreprise par AUTHIE *et al.* est d'immuniser les animaux contre la « maladie » plutôt que contre l'« infection », en induisant une immunité spécifique à l'aide de protéines recombinantes. Ces travaux devraient aboutir prochainement, mais les perspectives d'immunisation vaccinale ne sont pas encore concrétisées.

### 3 CONTROLE DE LA TRANSMISSION DES TRYPANOSOMES

Après une revue des divers modes de contrôle de la transmission des trypanosomes trouvés chez le bétail en Amérique Latine, des travaux visant à améliorer le contrôle des Tabanidés sont présentés.

#### 3.1 REVUE DES MODES DE CONTROLE DE LA TRANSMISSION DES TRYPANOSOMES

##### 3.1.1 Transmission vectorielle

La présentation des agents de transmission des trypanosomes du bétail en Amérique Latine (chapitre 1 et annexes 1.1 et 1.2) a fait état de très nombreuses espèces ayant ou pouvant avoir un rôle local et/ou temporaire. Etant donné le caractère spéculatif ou occasionnel de certains vecteurs, la présente étude est limitée aux agents de transmission dont le rôle et l'importance ont été démontrés: vampires, stomoxes, *Haematobia irritans* et Tabanidés.

##### 3.1.1.1 Vampires

La lutte contre les vampires est rarement entreprise pour le contrôle des trypanosomoses ; elle est toutefois justifiée dans les foyers épizootiques dus à *T. evansi*, car elle permettrait de limiter les risques de passage du parasite dans cet excellent réservoir sauvage qui est également vecteur du parasite.

En Guyane Française, la lutte contre les vampires, justifiée par l'existence de foyers de rage desmodine transmise aux bovins, a été réalisée par capture nocturne des animaux au « filet japonais », selon la technique de LIHNART *et al.* (1972). Les animaux capturés sont enduits d'un anticoagulant comme la chloro-phacinone, avec un excipient de type lanoline, puis relâchés. Par contact et léchage, le produit est transmis à l'ensemble de la colonie; chaque animal traité permet la destruction d'une quinzaine de ses congénères. L'efficacité de la technique a permis d'enregistrer des réductions du nombre moyen de morsures du bétail jusqu'à 91% avec le diphénylacétyl- 2 indanédione-1,3 (FAVRE et SANITE, 1985).

Il est également possible de traiter directement les bovins avec un anticoagulant auquel ils sont peu sensibles (diphénadione), mais auquel les vampires sont très sensibles; au Mexique, THOMPSON *et al.* (1972) ont ainsi observé une décroissance de 93% des morsures de *Desmodus rotundus* par un traitement unique intra-ruminal des bovins, sans pour autant trouver de traces de l'anticoagulant dans le lait et la viande.

##### 3.1.1.2 Stomoxes

Les principes de lutte chimique contre les stomoxes sont les mêmes que ceux de la lutte contre les Tabanidés et seront exposés dans la section suivante. Il faut y ajouter le contrôle écologique par élimination des gîtes de ponte favoris de ces insectes: amas de débris organiques humides, litières etc.; il est évident que par sa nature, cette mesure est difficilement applicable dans les élevages. En revanche les épandages d'insecticides pourraient être appliqués à la lutte contre les stomoxes, mais ce sont des techniques relativement polluantes.

##### 3.1.1.3 *Haematobia irritans*

Des essais de lutte chimique contre *Haematobia irritans*, visant à limiter le parasitisme direct, réalisés par auto-poudrage du bétail à l'aide de sacs de coumaphos ont permis un gain de poids de



10Kg/animal (HARVEY et BRETHOUR, 1979) ; quoiqu'il en soit, de nombreuses résistances ont déjà été enregistrées (UILENBERG, communication personnelle). Le rôle des *Haematobia* dans la transmission des trypanosomes reste toutefois à déterminer; il n'a jamais été démontré que la lutte contre le vecteur *Haematobia* présentait une quelconque rentabilité pour le contrôle de la trypanosomose.

#### 3.1.1.4 Tabanidés

L'étude de la biologie des Tabanidés en relation avec leur capacité vectorielle, est reportée en **annexe 1.1**. Dans la plupart des cas, les Tabanidés ont une activité saisonnière marquée, ce qui permet d'envisager une lutte temporaire contre ces insectes, lors de leur pic d'abondance. Associée à la brièveté de leur activité annuelle, la prise en considération des nuisances directes et indirectes des Tabanidés autorise la mise en place de plans de lutte annuels rentables, de courte durée (lutte chimique). Les taons étant des insectes extrêmement mobiles et des parasites temporaires très furtifs dont les gîtes larvaires sont variés et étendus, leur contrôle est limité.

**LUTTE ECOLOGIQUE : Aménagement des parcelles :** Pour favoriser la sédentarisation des Guêpes bembicines, prédatrices des taons (cf. **annexe 1.1**), l'aménagements de tas de sable sur les pâtures qui ne sont pas déjà sablonneuses est recommandé. L'approvisionnement permanent et suffisant en eau, est non seulement une nécessité pour le bétail, mais il peut aussi être un mode de sédentarisation des oiseaux prédateurs de taons (héron garde-boeufs). Le débroussaillage, ou au contraire la constitution de haies ont des effets équivoques et ne peuvent être conseillés qu'après une étude précise de l'écologie des espèces présentes (FOIL et HOGSETTE, 1994). Lorsque la lutte est dirigée contre une espèce particulière, des aménagements écologiques, drainages, ou au contraire inondations temporaires, peuvent donner des résultats satisfaisants (RHODAIN et PEREZ, 1985). Toutefois, chaque espèce possédant ses propres gîtes larvaires et sa propre dynamique saisonnière, la lutte contre les phases larvaires est *a priori* difficile à mettre en place ; ainsi, si le drainage de parcelles inondées permet le contrôle d'une espèce, il favorisera la pullulation d'une autre (FOIL et HOGSETTE, 1994).

**Les « Boucans » :** La boucan est la technique traditionnellement utilisée en Guyane Française, qui consiste à enfumer une zone où le bétail se réfugie, avec un feu lent de feuilles et branchages divers tassés dans un container d'environ 1m de haut (ancien bidon d'huile ou d'essence percé). Les taons sont repoussés par la fumée. Le bétail saisit très vite l'intérêt du boucan et s'y abrite, mais lorsque l'herbe de la zone enfumée est consommée, les animaux cessent de s'alimenter pour ne pas s'exposer aux taons. Il faudrait déplacer les boucans tout au long de la journée pour permettre au bétail de s'alimenter suffisamment, ce qui provoquerait un surcoût de main-d'oeuvre considérable. Une autre alternative consisterait à affourager le bétail dans une zone déterminée, protégée en permanence par les boucans; cette technique est recommandable, mais, en Guyane, peu d'éleveurs procèdent à la préparation de fourrage. La méthode des boucans n'est toutefois pas universelle puisque certaines espèces de taons sont au contraire attirées par la fumée; c'est le cas des vecteurs de la loase en Afrique (RHODAIN et PEREZ, 1985).

**LUTTE MECANIQUE : Les pièges :** Des leurres permettant le piégeage des insectes existent, et ont été utilisés en Afrique pour réduire l'abondance des mouches tsé-tsé, en particulier, les espèces vivant aux abords des fleuves, car leur répartition localisée permet la pose de pièges sur les sites stratégiques



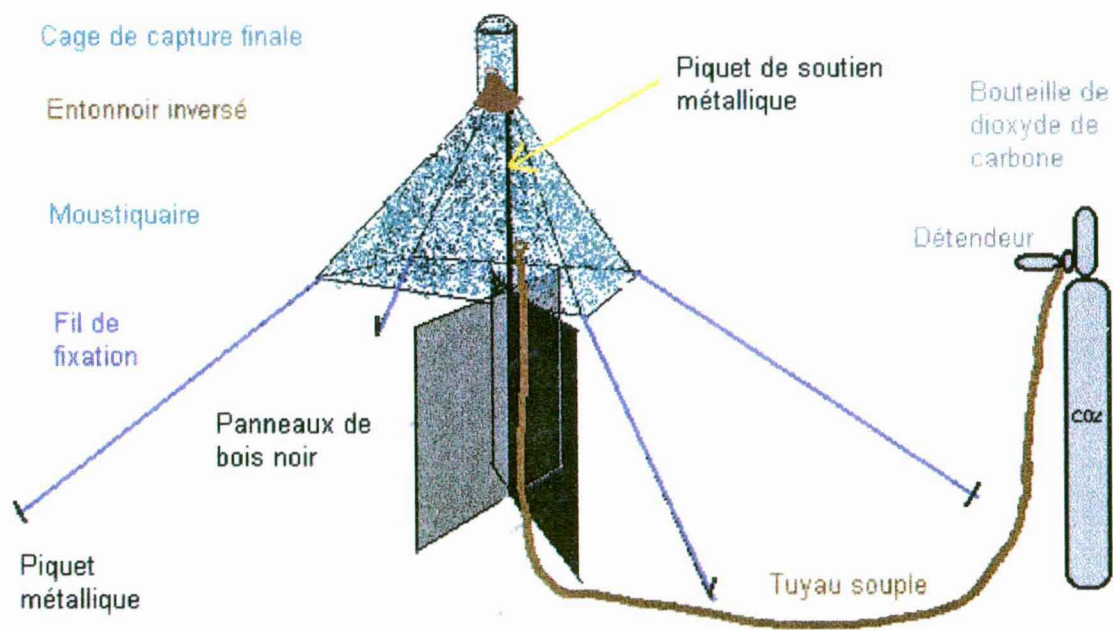
(CUISSANCE, 1989). Les glossines du groupe *palpalis* sont particulièrement attirées par le piège bicolore (et bicolore : noir et bleu) mis au point par CHALLIER et LAVEISSIERE (1973). Partant de ce modèle, de nombreux autres pièges ou écrans associant les couleurs noir et bleu ont été élaborés (CUISSANCE 1996). La rentabilité de la lutte antiglossinienne par piégeage a été démontrée en République Centrafricaine (BLANC *et al.*, 1995). Ces leurres visuels et olfactifs peuvent également être enduits d'insecticides (MÉROT *et al.*, 1986) ou de produits stérilisants (CUISSANCE, 1996), et sont regroupés sous le terme de « système attractifs toxiques ». Ces techniques ne sont appliquées qu'à la lutte contre les glossines. Pour les taons, des pièges assez voisins ont été expérimentés, comme le piège Manitoba (THORSTEINSON, 1958) ; ils sont efficaces et permettent de capturer des insectes, notamment pour leur étude. Ainsi, *T. fuscicostatus* est davantage capturé avec le piège qu'avec l'appât naturel, mais, pour la plupart des espèces, les pièges sont moins attractifs que l'appât naturel. Par exemple, le pourcentage relatif d'insectes capturés est de 3,7% de *T. wilsoni* avec un piège, contre 24,9% sur des bovins (FOIL et HOGSETTE 1994).

Le piège ayant donné les meilleurs résultats dans la capture des taons en Guyane Française est le piège de Malaise, particulièrement bien étudié par FRENAY (1980). Des études préalables sur l'attractivité de panneaux de bois ont montré que les caractéristiques les plus performantes des panneaux sont une arête d'un mètre, une couleur sombre, deux panneaux croisés à 90°. Ces caractéristiques ont été retenues pour la constitution du piège de Malaise utilisé en Guyane Française, par FRENAY et RAYMOND. Une moustiquaire de forme globalement conique (pointe en haut) est placée au-dessus des panneaux, à une distance d'environ 80 cm du sol, surmontée par un entonnoir et une cage en tulle de moustiquaire ou un sac plastique (figure 47). Pour augmenter l'efficacité de ces pièges on peut faire diffuser du gaz carbonique (CO<sub>2</sub>) ou laisser se sublimer de la glace carbonique à mi-hauteur du piège (ROBERTS, 1972). En effet, le CO<sub>2</sub> est un gaz naturellement expiré en quantité par les mammifères, c'est un attractif puissant des Tabanidés et autres diptères. Les insectes qui détectent le gaz dans l'air remontent la flamme de diffusion vers la source, et terminent leur approche à la vue des panneaux noirs. Un piège sans CO<sub>2</sub> permet de capturer en une heure jusqu'à 200 taons, et en une journée jusqu'à 350 spécimens; avec le CO<sub>2</sub> on peut capturer 450 insectes en une heure, et jusqu'à 950 par jour (RAYMOND, 1987 b, et communication personnelle). Il faut noter que certaines espèces sont peu attirées par le piège de Malaise, on peut citer *Chlorotabanus inanis*, *Ch. mexicanus* et *Cryptotylus unicolor* (RAYMOND, 1986). En multipliant le nombre de pièges dans un élevage, on peut réduire en partie la pression vectorielle, mais ce mode de lutte, à lui seul, reste très insuffisant pour la maîtrise des taons qui demeurent plus attirés par les bovins que par les pièges (ROBERTS, 1972 et H. RAYMOND, communication personnelle).

En Afrique l'installation stratégique des pièges autour des abreuvoirs permet d'en limiter considérablement le nombre et d'en augmenter l'efficacité (LE GALL *et al.*, 1995). Cette tactique pourrait également être appliquée en Guyane Française puisque la pullulation des taons a lieu pendant la saison sèche.

Ces pièges sont très utiles à l'approvisionnement en taons pour la recherche, toutefois, leur efficacité doit être augmentée en vue d'un usage dans les élevages, si l'on identifie un nouvel attractif, moins onéreux et plus pratique que le gaz carbonique. Des travaux récents rapportés par FOIL (communication personnelle) montrent l'intérêt de l'octénol, de l'ammoniaque et de l'association octénol/phénol comme attractifs. Ces derniers n'ont pas encore été évalués en Guyane Française.





**Figure 47 a: Piège de Malaise, détail des accessoires (illustration originale)**



**Figure 47 b: Piège de Malaise disposé en savane, près d'une cage de contention du bétail, pour estimation de la compétitivité de l'appât naturel et de l'appât artificiel (cliché H. RAYMOND)**

**Figure 47: Piège de Malaise**



## LUTTE CHIMIQUE

**Traitements insectifuges :** Des préparations qui éloignent les insectes existent pour les humains, généralement destinées à repousser les moustiques. Ces produits sont peu rémanents, et leur usage demande à être renouvelé environ toutes les 2 heures. Il n'existe pas d'insectifuge commercialisé destiné à être pulvérisé sur les animaux d'élevage.

**Traitements insecticides :** Un insecticide peut être répandu dans le milieu, appliqué sur des supports particuliers ou directement sur le bétail.

La lutte chimique contre les phases larvaires des Tabanidés serait très coûteuse et polluante. Pour les espèces d'intérêt vétérinaire, la diversité et l'extension des biotopes larvaires sont telles que ces modes de lutte ne sont pas envisageables (RAYMOND, 1982).

La désinsectisation des bâtiments et du matériel d'élevage pourrait être envisagée avec des préparations rémanentes du type de celles utilisées pour le bâtiment domestique (lutte contre les moustiques).

Le traitement du bétail a montré son efficacité dans la lutte contre les glossines (FRÉZIL, 1994). Plusieurs techniques d'application et plusieurs préparations d'insecticides (et acaricides) sont utilisables : boucles d'oreilles, baignade, douchage, et coulage (pour on). Seules les deux dernières semblent adaptées à la lutte contre les Tabanidés.

Les préparations pour coulage ou « pour on » ont été utilisées avec succès contre les glossines en Ethiopie (MULATU *et al.*, 1995). Contre les Tabanidés, elles sont recommandées chez les chevaux, mais sont trop onéreuses pour le traitement des bovins chez lesquels on préférera le douchage.

Les essais menés en 1991 par RAYMOND et FAVRE (1991 a, b et c) avec diverses préparations de deltaméthrine « pour on » ou en aspersion sur le bétail ont donné des résultats très encourageants. L'activité insecticide sur *Tabanus importunus* a duré plus de 10 jours, pendant lesquels l'abondance des insectes était sensiblement réduite. D'autres essais menés avec la deltaméthrine « pour on » ont montré une réduction de 68% de l'abondance de *Cryptotylus unicolor* (RAYMOND et FAVRE, 1991 b). Les auteurs recommandent une pulvérisation soignée des zones les plus touchées: membres, tête et ventre, avec une association deltaméthrine/pipéronyle butoxide (BUTOX 50<sup>ND</sup>; à la concentration de 50 ppm de matière active, 2 litres/animal), et d'éviter le traitement si l'activité des guêpes bembicines est importante. A la suite de 3 années de traitements insecticides par aspersion du bétail tous les 10 jours pendant la saison d'activité des Tabanidés, il a été observé une nette diminution de l'abondance des taons sur un troupeau élevé dans une savane isolée dans la forêt (H. BERGERE, communication personnelle); ce mode de lutte semble donc avoir des effets à long terme sur la densité de la population des taons en milieu fermé.

En Guyane Française, si l'on considère que la lutte contre les Tabanidés telle que décrite par RAYMOND et FAVRE permet de diminuer de moitié leur nuisance, le bénéfice sur un lot de 100 animaux en production serait d'environ 9kg/animal et par an, soit environ 18.000FF/an pour le troupeau. Le coût de cette lutte, main d'oeuvre incluse appliqué tous les 10 jours pendant la saison d'activité des Tabanidés, est d'environ 4.800FF (800FF X 6 traitements). Selon ces estimations le contrôle chimique des Tabanidés serait donc rentable ; en outre, il aurait un rôle bénéfique sur le contrôle des tiques, notamment *Boophilus microplus*, dans le secteur géographique étudié.

**Remarque :** une étude plus détaillée de la lutte chimique contre les Tabanidés est présentée en **annexe 3.2**.



**LUTTE BIOLOGIQUE :** Le contrôle des parasites et des prédateurs des Tabanidés n'est pas envisageable. Tout au plus peut-on favoriser la sédentarisation des hérons garde boeufs et des guêpes bembicines dans les élevages.

**LUTTE GENETIQUE :** La lutte par lâcher de mâles stériles, utilisée avec succès chez certaines glossines et surtout avec *Cochliomyia hominivorax*, n'est pas envisageable chez les Tabanidés à cause des trop fortes densités d'insectes et l'impossibilité de produire ces insectes au laboratoire (RAYMOND, communication personnelle).

### **Conclusions**

Jusqu'à ce jour, les Tabanidés ont été peu étudiés, et les moyens de lutte disponibles sont très insuffisants. En Afrique, pour le contrôle de la trypanosomose des dromadaires, la recherche semble s'orienter vers la lutte par piégeage des insectes à l'aide d'attractifs (« Development of sustainable technologies for the control of camel trypanosomosis and its vectors », ICIPE, Draft proposal, 1996). Les travaux de RAYMOND et FAVRE (1991 a, b, et c) et les résultats de terrain après plusieurs années de lutte chimique par aspersion montrent la possibilité de réduire les populations de Tabanidés par une lutte chimique saisonnière. Toutefois, dans les secteurs géographiques où l'activité des Tabanidés est permanente, seules les techniques de piégeage pourront être utilisées car le coût des traitements chimiques permanents serait trop important. La lutte chimique stratégique comme elle est indiquée au §3.3 pourrait alors venir en complément des techniques de piégeage appâté.

#### **3.1.2 Autres modes de transmission**

La transmission iatrogène des trypanosomes peut être jugulée par l'usage de précautions hygiéniques simples lors des prophylaxies collectives (aiguilles à usage unique).

La transmission de la mère au jeune (*T. vivax*) peut être maîtrisée par traitement curatif stérilisant des mères pendant la gestation, ou des jeunes à la naissance.

Pour éviter la transmission pérorale de *T. evansi* et *T. cruzi* aux chiens et chats, les viandes ou abats issus d'animaux potentiellement porteurs du parasite (gibiers, chevaux, etc.) ne doivent pas être donnés crus.

La reproduction doit être interdite aux chevaux infectés par *T. equiperdum*, si tant est qu'ils soient identifiés. Bien que dans certains pays les trypanocides soient encore utilisés, l'abattage des animaux infectés est recommandé pour le contrôle de la transmission de *T. equiperdum*.

### **3.2 IMMUNISATION DE MAMMIFERES CONTRE DES INSECTES HEMATOPHAGES**

Les premières observations relatives à l'immunité des mammifères contre des arthropodes hématophages sont celles de TRAGER chez les tiques, en 1939 (a et b), mais ses travaux n'ont pas eu de suite jusqu'aux années 1970. L'immunisation des hôtes mammifères contre leurs parasites hématophages à partir d'extraits d'antigènes internes du parasite, et plus particulièrement ceux de l'intestin, est donc un concept de développement récent; il a été appliqué aux moustiques (ALGER et CABRERA, 1972), aux stomoxes (SCHLEIN et LEWIS, 1976), aux tiques (ALLEN et HUMPHREYS, 1979 ; JOHNSTON *et al.*, 1986; DESQUESNES et VIGNON 1987), aux glossines (DESQUESNES 1990), etc. sans que le succès soit universel. Ces recherches ont toutefois vu leur aboutissement dans la mise au point par les australiens et les cubains de deux vaccins recombinants (à partir d'un antigène intestinal du parasite) contre la tique du bétail

*Boophilus microplus*, respectivement dénommés TickGARD<sup>ND</sup> et Gavac<sup>ND</sup>. L'efficacité de ces vaccins est actuellement à l'étude sur le terrain dans de nombreux pays.

Partant des modèles précédents, des essais d'immunisation de bovins contre des Tabanidés ont été entrepris, par inoculations d'antigènes intestinaux de Tabanidés à des bovins; ces expériences sont relatés en annexe du présent document (**annexe 3.3**). Les principales observations sont résumées ci-après.

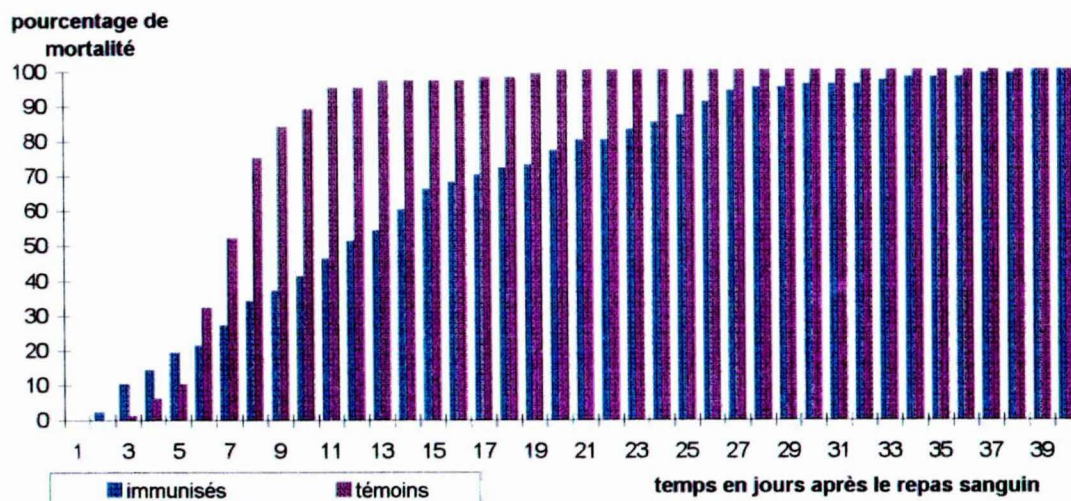
### 3.2.1 Essais d'immunisation de bovins contre les taons

**Résumé des observations** : Les taons ne pouvant à ce jour être élevés entièrement au laboratoire, les insectes nécessaires à la recherche sont capturés au fur et à mesure des besoins, et nourris en cage sur l'hôte. Dans les conditions d'élevage des femelles gorgées au laboratoire, le taux de ponte, le poids des ovaires ou des oeufs, et l'éclosabilité, initialement identifiés comme critère d'évaluation des effets des immunisations n'ont pu être retenus car ils se sont avérés très peu reproductibles d'un lot d'insectes à l'autre (nourris sur le même animal), même avant immunisation. Seule la durée de survie des femelles gorgées a été retenue comme critère d'évaluation puisqu'elle est apparue reproductible d'un lot d'insectes à l'autre et d'un bovin à l'autre.

La courbe de mortalité des insectes nourris sur bovins avant immunisation présente une allure sigmoïde dont l'infléchissement a lieu vers le septième jour et qui atteint 90% de mortalité vers le dixième jour après le repas sanguin (**figure 48**). La durée de survie maximale des insectes est de 19 jours, et la durée moyenne de 7,78 +/- 0,54 jours. La courbe de mortalité des insectes nourris sur les bovins immunisés n'est pas d'allure sigmoïde ; elle atteint 90% de mortalité vers le 26<sup>ième</sup> jour après le repas sanguin (**figure 48**). Par rapport aux lots témoins, on observe une plus forte mortalité des insectes pendant les tout premiers jours d'élevage (avant J5), puis une mortalité inférieure à celle des lots témoins ; les deux populations (immunisés/témoin) se rejoignant aux environs de J30. La durée de survie maximale des insectes est de 38 jours et la durée de survie moyenne est de 13,91 +/- 2,13 jours, significativement différente de celle des témoins ( $\epsilon = 5,57$  ;  $p < 10^{-7}$ ). La mortalité des taons nourris sur bovin immunisé ou non immunisé est illustrée à la **figure 48**, où J0 est la date du repas sanguin. Au total l'immunisation a provoqué une augmentation de la durée moyenne de survie des femelles gorgées.

**Discussion-conclusion** : Ces travaux n'ont pas donné lieu à des recherches approfondies car les premiers résultats ont rapidement montré les limites de la méthode. Les Tabanidés sont un matériel biologique délicat ; l'impossibilité de les élever de manière satisfaisante au laboratoire est un obstacle majeur à la mise au point de protocoles expérimentaux du type de celui qui a été utilisé. Les effets enregistrés ne laissent pas d'espoir pour une application à la lutte contre les Tabanidés. Par la suite, un modèle strict de laboratoire a été retenu afin de mieux standardiser les techniques. Ainsi, des essais d'immunisations de cobayes contre des sous-fractions antigéniques d'intestins moyens d'*Aedes aegypti* ont été entrepris en collaboration avec l'Institut Pasteur de la Guyane (REYNES, DESQUESNES et GANTEAUME, 1996). Les résultats de ces travaux ont montré que l'attractivité, la mortalité et la fécondité totales des moustiques n'ont pas été modifiées par l'immunisation. Le taux de nymphose a diminué de 15% chez les insectes nourris sur cobayes immunisés avec des antigènes insolubles ou de poids supérieur à 100KDa ; en revanche il a augmenté avec la fraction vaccinale F2 (30KDa < F2 < 100KDa). Ces résultats sont insuffisants pour envisager une application à la lutte anti-vectorielle.





**Commentaire :** Les pourcentages de mortalité des insectes gorgés sur animaux non immunisés (témoins) et sur animaux immunisés ont été calculés sur des effectifs respectifs de 160 et 192 insectes. La courbe de mortalité des insectes nourris sur lot témoin est d'allure sigmoïde ; le pourcentage de mortalité atteint 50% à J7, et dépasse 95% 13 jours après le repas sanguin. La courbe de mortalité des insectes nourris sur animaux immunisés est d'allure parabolique ; elle est d'abord plus élevée que celle des insectes nourris sur lot témoin, qu'elle croise à J6, puis reste très inférieure, atteignant 50% à J13; le pourcentage de mortalité ne dépasse 95% que 27 jours après le repas sanguin.

**Figure 48 : Pourcentage de mortalité des femelles de *T. importunus* nourries sur bovins immunisés ou non immunisés (témoins) contre des antigènes intestinaux de Tabanidés, en fonction du temps, en jours après le repas sanguin**

### 3.2.2 Réflexions sur la stratégie de recherche

Les essais d'immunisation de mammifères contre des antigènes intestinaux d'arthropodes hématophages se sont multipliés ces dix dernières années, sans qu'aucun ne débouche à ce jour sur l'utilisation d'un vaccin, à l'exception du système *Boophilus microplus* / bovin développé par les australiens (DAVIDSON, 1985 ; JOHNSTON *et al.*, 1986 ; KEMP *et al.*, 1989 ; WILLADSEN et KEMP, 1988) et les cubains (PENICHET *et al.*, 1994 ; RODRIGUEZ *et al.*, 1995) à partir d'antigènes recombinants.

L'immunisation de bovins contre les antigènes intestinaux de *B. microplus* donne des effets directs évidents : rupture du tube digestif, mortalité, gorgement incomplet, (DESQUESNES et VIGNON, 1987). Des résultats intermédiaires sont obtenus avec les autres tiques (voir références citées en introduction du présent chapitre), mais dans nos travaux sur les insectes, les essais d'immunisations de lapins contre des glossines (DESQUESNES, 1990), de bovins contre des taons (ci-dessus et en annexe), de souris et de cobayes contre des moustiques ((DESQUESNES, LA ROCQUE et REYNES, non publié ; REYNES, DESQUESNES et GANTEAUME, 1996) se sont tous avérés décevants; en particulier aucun effet visible sur les insectes et aucune mortalité accrue n'ont pu être mis en évidence à l'issue des immunisations. On observe même des effets paradoxaux du type allongement de la durée de survie des taons ou augmentation



du taux de nymphose des moustiques. Dans tous les cas, les protocoles expérimentaux sont complexes, et le matériel biologique se prête peu à l'expérimentation.

L'existence de la membrane péritrophique chez les insectes est une des causes les plus souvent évoquées pour cette différence de résultats entre les immunisations contre des acariens et des insectes. En conséquence, l'immunisation de mammifères contre les antigènes intestinaux des insectes hématophages ne semble pas pouvoir aboutir sur un mode de lutte efficient.

Le contact entre les arthropodes hématophages et leurs hôtes étant le plus souvent de courte durée, les mécanismes de lutte visant à interrompre ou altérer la prise du bol alimentaire des parasites laissent peu d'espoir; tout au plus peut on obtenir par stimulation immunitaire des niveaux de résistance équivalents à ceux naturellement acquis par les hôtes aux cours des expositions naturelles aux piqûres.

D'autres stratégies reposant sur les composants sanguins de l'hôte peuvent être envisagées, mais elles rencontrent également des obstacles :

- la diffusion systémique d'hormones ou d'insecticides présente le problème des résidus dans la viande ou le lait ;
- l'immunisation contre les organismes commensaux du tube digestif des insectes se heurte à l'existence d'antigènes communs à ces organismes et aux mammifères ;
- l'inhibition des enzymes digestives réclamerait de grandes quantités d'agents inhibiteurs.

Au cours de l'expérimentation taons/bovins, des coagulations apparentes du sang dans le tube digestif des insectes ont été observées chez les taons nourris sur un bovin naturellement « résistant » (« effet témoin positif »). La proportion importante d'insectes ( jusqu'à 30%) mourant dans les quelques heures suivant le repas sanguin a été telle que cet animal initialement destiné à être témoin a dû être écarté de l'expérimentation. Il y a peut-être dans ces observations les prémices d'une nouvelle voie de recherche, qui pourra orienter vers la sélection génétique d'animaux naturellement résistants ou vers la genèse artificielle des mêmes phénomènes chez des animaux ne les présentant pas naturellement.

La standardisation de l'élevage des taons au laboratoire reste une étape préalable incontournable afin de poursuivre ce type de recherches sur les Tabanidés.

### **3.3 ATTRACTIVITE INDIVIDUELLE DES ANIMAUX**

Au cours des manipulations du bétail pendant la période d'infestation par les taons, il a souvent été remarqué que la charge individuelle des animaux en Tabanidés est très variable, tout en étant stable dans le temps pour un animal donné. Des travaux visant à confirmer ces observations ont été réalisés, et des perspectives d'application sont présentées.

#### **3.3.1 Evaluation de l'attractivité individuelle du bétail pour les taons**

**Matériel et méthode :** Des comptages d'insectes posés sur le bétail (bovins ou chevaux) sont effectués à l'aide d'un compteur manuel, de l'avant vers l'arrière de l'animal, sur un seul côté. Des jumelles sont utilisées pour les animaux ne se laissant pas suffisamment approcher pour dénombrer les insectes à l'oeil nu. Les comptages ne concernent que les taons, toutes espèces confondues; ils sont effectués sur tous les animaux du lot ; l'ordre de lecture initial est répété 4 fois pour un total de 5 comptages.

Chez les bovins, les comptages ont été répétés 5 jours sur 7 pendant cinq semaines sur 15 animaux.

Chez les chevaux, les comptages ont été répétés 1 jour sur 7 pendant cinq semaines sur 7 animaux.



La moyenne et l'écart moyen des cinq comptages individuels quotidiens sont calculés et multipliés par deux pour donner la charge moyenne en taons de l'animal. Puis la moyenne des lots d'animaux est établie. Deux sous-populations d'animaux, « normalement attractifs » et « hyper-attractifs » sont déterminées, et leurs moyennes établies et comparées.

Chez 1 cheval normalement attractif, sélectionné suite aux résultats des comptages chez les chevaux, et placé dans un lot de 17 bovins, les comptages ont été répétés 3 jour de suite sur l'ensemble des animaux.

**Résultats :** Chez les bovins la moyenne générale du lot (15 animaux) est de 21,14 +/- 5,08 taons par animal.

La moyenne de 2 animaux très attractifs est de 35,6 +/- 1,84 taons par bovin.

La moyenne des 13 autres animaux est de 18,91 +/- 3,12 taons par bovin.

Chez les chevaux la moyenne générale du lot (7 animaux) est de 25,42 +/- 9,78 taons par animal.

La moyenne d'un animal hyper-attractif est de 55,56 +/- 12,34 taons.

La moyenne des 6 autres animaux est de 20,42 +/- 4,51 taons par cheval.

Chez le cheval placé parmi 17 bovins, la charge en Tabanidés a été 5,3 à 10,5 fois plus importante que la charge moyenne des bovins.

### 3.3.2 Discussion/application

L'attractivité est une caractéristique permanente des animaux, quel qu'ait été le jour d'observation, les animaux hyper-attractifs ont toujours présenté davantage d'insectes que les autres, il est en conséquence très aisé de les identifier. Sans passer par les méthodes de comptage les éleveurs connaissent les animaux hyper-attractifs de leur élevage.

Ces différences d'attractivité résultent probablement de la conjonction de plusieurs paramètres: taille, forme, couleur de la robe, métabolisme (l'infection par les trypanosomes augmente l'attractivité des bovins pour les glossines, probablement en liaison avec la fièvre engendrée par l'infection), et odeur spécifique de l'hôte. L'analyse de ces paramètres sera probablement complexe; elle pourrait mener à l'identification de substances chimiques attractives pouvant être utilisées dans le piégeage des insectes.

Dans tous les cas, une application pratique immédiate de ces observations est possible par le traitement insecticide systématique et permanent des animaux hyper-attractifs qui constitueraient ainsi des « pièges biologiques pour le traitement chimique ». Du fait de leur rémanence et de leur facile application individuelle, l'utilisation de préparation « pour on » est particulièrement recommandée pour de tels traitements individuels.

Des propositions visant à diminuer les dépenses de la lutte chimique contre les insectes hématophages en réduisant le traitement à une partie du cheptel avaient été faites par HARVEY et BRETHER (1979), qui recommandaient de traiter seulement 5 à 20% des animaux d'un troupeau pour la lutte contre *Haematobia*. En choisissant les animaux les plus attractifs des lots on assurera à la fois le traitement du troupeau et la destruction d'un maximum d'insectes. Ces recommandations peuvent être ajoutées à celles déjà mentionnées pour la lutte contre les taons.

### 3.4 CONCLUSIONS

Les techniques de lutte contre les Tabanidés permettent la réduction des populations, mais en aucun cas leur éradication. Il a été observé qu'un très faible pression vectorielle suffit à la transmission de *T. vivax*. Si le contrôle des Tabanidés ne peut empêcher la transmission des trypanosomes, il permet de soulager le bétail de la nuisance directe de ces insectes, à un niveau suffisant pour que les effets de cette nuisance directe n'engendrent plus l'augmentation de la réceptivité du bétail aux trypanosomoses. Dans ce sens, la lutte contre les Tabanidés revient à contrôler le principal facteur favorisant de l'expression clinique des trypanosomoses plus qu'à contrôler véritablement ses vecteurs.

Dans les infections des bovins par *T. vivax*, des paramètres zootechniques satisfaisants, associés à un contrôle même partiel des vecteurs permettra, pour la majorité des animaux, de limiter le passage des infections à l'état clinique.







## SYNTHÈSES ET CONCLUSION





# 1 LA TRYPANOSOMOSE BOVINE EN GUYANE FRANÇAISE

En Guyane Française, seul *T. vivax* a été identifié chez le bétail, et toutes les études menées n'ont pas permis de confirmer l'existence de *T. evansi*, sauf dans un cas, chez un chien de chasse.

La trypanosomose bovine due à *T. vivax* sévit sur le mode enzoo-épizootique, avec épizooties cliniques sur fond d'enzootie inapparente. Les réservoirs connus du parasite sont les bovins et les ovins. Les vecteurs mécaniques sont les taons et les stomoxes. Les foyers de trypanosomose clinique apparaissent le plus souvent pendant la deuxième partie de la saison sèche (octobre-décembre). Les facteurs favorisants qui concordent à cette période de l'année sont une alimentation et un abreuvement insuffisants, la recrudescence des maladies intercurrentes comme l'anaplasmose, et la nuisance directe dues à la pullulation des Tabanidés. La résurgence à partir de porteurs inapparents ou l'introduction de tels animaux dans des troupeaux non infectés sont à l'origine des foyers d'infection.

Le mécanisme de la résurgence au sein d'un troupeau est le suivant: les facteurs favorisants provoquent une immunodépression temporaire qui engendre la réapparition des parasites dans la circulation des animaux porteurs. Lors des pics parasitémiques, l'infection est transmise par les insectes hématophages, et étendue à l'ensemble du troupeau dans un délai très bref, de l'ordre de quelques jours lorsque la réceptivité des animaux est forte. La morbidité est voisine de 100% dans la plupart des foyers observés.

La trypanosomose sévit alors de manière clinique, engendrant une forte chute des gains de poids, voire leur inversion. Quelques cas d'avortement et de mortalité ont été rapportés à la trypanosomose, mais, dans l'ensemble, l'expression la plus grave est un amaigrissement prolongé et très lentement compensé. En l'absence de traitement, après 2 à 4 mois d'évolution clinique, on assiste à la régression spontanée des symptômes lorsque les animaux s'immunisent et que les paramètres zootechniques redeviennent favorables, au début de la saison des pluies. Par la suite, une partie des animaux éliminent spontanément le parasite (« self cure »), d'autres restent porteurs permanents, généralement asymptomatiques, jusqu'à une nouvelle généralisation de l'infection.

Dans un élevage où les **paramètres zootechniques ne sont pas satisfaisants**, des cas cliniques isolés peuvent apparaître tout au long de l'année, dus à des résurgences cliniques d'infections latentes sous l'effet d'un déficit immunitaire individuel. La circulation permanente du parasite est alors assurée par les stomoxes ou certains taons crépusculaires ayant une activité quasi permanente.

Dans un élevage où les **paramètres zootechniques sont satisfaisants**, l'expression clinique de l'infection peut disparaître pendant plusieurs années (jusqu'à cinq ans dans les 20 dernières années d'observations) ; dans ce cas il a été observé que la circulation du parasite peut avoir lieu, mais qu'elle n'est pas accompagnée de signes cliniques visibles. Les conversions sérologiques observées en dehors des foyers épizootiques saisonniers, sont donc dues à la circulation occulte du parasite (lente et asymptomatique).

En définitive on observe trois types de situations:

- le foyer épizootique, en élevage globalement non infecté, il s'accompagne de signes cliniques prononcés et d'une circulation rapide du parasite;
- l'enzootie asymptomatique qui sévit dans les élevages de bon niveau zootechnique, ne s'accompagne pas de signes cliniques visibles, présente une circulation lente du parasite;



- l'enzootie clinique, qui sévit dans les élevages de faible niveau zootechnique, elle se traduit par une fraction du cheptel naturellement résistante en situation de portage inapparent, une fraction du cheptel en situation délétère chronique, et par des cas cliniques aigus occasionnels, notamment lors d'introduction d'animaux dans l'élevage.

Les deux souches de *T. vivax* isolées en 1988 et 1994 sont résistantes à l'acéturate de diminazène, mais sensibles au chlorure d'isométymidium, ce dernier assurant une protection de plus de 4,5 mois à la dose de 0,5mg/Kg en conditions expérimentales. Sur le terrain, chez les bovins, le chlorure d'isométymidium ne semble pas non plus connaître de résistance.

Le contrôle de la trypanosomose en Guyane Française peut donc être effectué par un traitement systématique au chlorure d'isométymidium au début de la saison sèche (septembre). Le contrôle de la pullulation des Tabanidés peut être assuré par aspersion à la deltaméthrine (1ppm) tous les dix jours, pendant la période maximale d'activité de ces insectes (généralement entre le 15 octobre et le 15 décembre, soit 5 à 7 traitements par an). En dehors de cette saison, il est recommandé de ne traiter que les animaux hyper-attractifs (« pour on »). On ne négligera pas les mesures zootechniques classiques : usage des boucans, aménagement de tas de sables, et disposition d'abris sous lesquels on peut attirer le bétail aux heures d'activité des Tabanidés en saison sèche (complémentation et abreuvement sous abri).

L'élimination du parasite d'un élevage n'est envisageable que si celui-ci n'est pas mitoyen d'un élevage éventuellement infecté. Tous les ruminants doivent être traités ; la dose de 1mg/Kg de chlorure d'isométymidium IM est recommandée car, dans les conditions de terrain, les injections sont parfois incomplètes. Cette intervention doit être suivie de la mise en place d'une épidémiolo-surveillance réalisée à l'aide du diagnostic de détection des anticorps et du traitement systématique au chlorure d'isométymidium de tout animal positif, et de tout animal nouvellement introduit dans l'élevage.

Les tests redevenant négatif 1 mois (ELISA-indirecte *T. evansi*) à 3 mois (ELISA-indirecte *T. vivax*) après le traitement, deux prélèvements à 1 ou 3 mois d'intervalle permettent d'établir si le troupeau est assaini. Il est toutefois recommandé de réaliser deux traitements successifs à trois mois d'intervalle pour s'assurer que la totalité des animaux reçoit au moins une injection.

Si le choix de la prémunition des animaux est réalisé, les signes cliniques doivent être contrôlés par des traitements à l'acéturate de diminazène à la dose de 7mg/Kg IM. Ce traitement engendre toujours la régression, au moins temporaire des symptômes; il n'en est pas pour autant stérilisant puisque les parasites réapparaissent une 15<sup>aine</sup> de jours après, autant chez les bovins que chez les ovins. En revanche, 2 ou 3 traitements successifs semblent favoriser un contrôle plus précoce de la maladie. L'observation et le traitement itératif des animaux les plus sensibles à la trypanosomose sont donc recommandés.

Les techniques de diagnostic parasitologique étant insuffisamment sensibles, et les techniques de diagnostic sérologique actuellement disponibles n'étant pas spécifiques d'espèce (interférences avec *T. cruzi* et *T. evansi*), il n'est pas possible d'établir si la faune sauvage trouvée en périphérie des élevages peut ou non agir comme réservoir de *T. vivax*. En revanche le rôle de réservoir de la trypanosomose bovine a été confirmé chez le mouton à la fois au laboratoire et sur le terrain ; cette espèce, devra donc être prise en considération dans les programmes de lutte (ainsi que, probablement, les chèvres).

Puisqu'on ne peut exclure l'existence d'un réservoir sauvage ou domestique non encore identifié, et que la circulation non contrôlée du bétail est fréquente, l'éradication de *T. vivax* de Guyane Française ne doit pas être recommandée. Toutefois, l'éradication à l'échelle de quelques troupeaux bien suivis est un bon préalable à l'étude de faisabilité d'une telle entreprise.



## 2 DIAGNOSTIC DES TRYPANOSOMOSES DU BETAIL EN AMERIQUE LATINE

Si une confusion clinique existe entre les diverses hémoparasitoses du bétail, il a été montré que le diagnostic de laboratoire par recherche d'anticorps permet une **distinction fiable**. En revanche, pour les études épidémiologiques, les outils de diagnostic des trypanosomoses sont très insuffisants.

La faible sensibilité des **techniques parasitologiques** limite leur application aux foyers épidémiologiques.

La technique de détection des anticorps par **ELISA-indirecte** présente une sensibilité satisfaisante, mais elle n'amène qu'une réponse vague sur l'espèce en cause, et ce, quel que soit l'antigène utilisé.

Les **croisements sérologiques** très prononcés observés entre *T. vivax* ou *T. evansi* chez les animaux interfèrent dans le diagnostic sérologique, mais, *a contrario*, peuvent être mis à profit pour le diagnostic; ainsi la détection des ruminants infectés par *T. vivax* est possible par ELISA-indirecte *T. evansi*; la confirmation d'espèce pouvant ensuite être affinée par la réalisation de l'ELISA-indirecte *T. vivax*. De tels croisements sérologiques sont également observés chez l'homme; la détection des infections par *T. cruzi* en ELISA-indirecte *T. evansi* peut être mise à profit pour le dépistage des donneurs de sang ou la réalisation d'enquêtes séro-épidémiologiques sur la maladie de Chagas chez l'homme.

A ce jour, les ELISA-indirectes *Trypanosoma* spp. sont les meilleurs outils de diagnostic disponibles pour les enquêtes séro-épidémiologiques des trypanosomoses.

Si, dans un contexte épidémiologique connu, l'évolution des taux d'anticorps lors de 2 prélèvements permet de déduire avec une relative confiance qu'un animal est porteur ou non d'un parasite, les tests de détection des antigènes ou de l'ADN sont mieux adaptés à un diagnostic sensible des **infections actives**.

Il a été montré l'absence de spécificité des **anticorps monoclonaux** mis au point en Afrique (Ag-ELISA) pour la détection des antigènes de *T. vivax*, *T. brucei* et *T. congolense*, ainsi que la sensibilité moyenne de l'Ag-ELISA *T. brucei*, et la **très faible sensibilité** de l'Ag-ELISA *T. vivax*. L'usage de ces tests en Amérique doit être proscrit, et leur abandon en Afrique est très probable.

La **PCR** et les sondes ADN permettent l'étude des trypanosomes chez les vecteurs. Chez l'hôte, ces techniques peuvent contribuer au diagnostic spécifique d'espèce, avec un seuil de détection de 1 à 10 parasites/ml de sang selon les techniques utilisées. La détermination du niveau réel de parasitémie pendant les périodes dites « aparasitémiques » (HCT négative) est un préalable avant de pouvoir affirmer que la PCR peut être appliquée avec succès à l'étude des trypanosomoses animales. Si ce niveau est généralement inférieur à 1 parasite/ml, la PCR n'apportera que peu d'avantages sur le diagnostic parasitologique.

De même, la démonstration de l'existence d'antigènes parasitaires spécifiques circulant dans le sang pendant les phases aparasitémiques doit être un préalable au choix d'un antigène cible et à l'élaboration de nouveaux anticorps monoclonaux pour la mise au point d'ELISA-immunocapture sensibles et spécifiques.

En Amérique Latine, les outils idéaux de diagnostic médical ou d'études épidémiologiques doivent assurer une détection sensible des anticorps et des antigènes (ou de l'ADN) permettant la détection et l'identification de *T. vivax*, *T. evansi*, *T. equiperdum* et *T. cruzi*. Une recherche collaborative associant plusieurs organismes et pays d'Amérique Latine est fortement recommandée devant l'ambition d'un tel projet. Dans l'attente que ces techniques soient disponibles, la détection des anticorps dirigés contre *Trypanosoma* spp. (ELISA-indirecte) peut être complétée par la détection de l'ADN spécifique d'espèce par PCR.

### 3      **CONTROLE DES TRYPANOSOMOSES ET DE LEURS VECTEURS EN AMERIQUE LATINE**

La lutte contre la **Dourine** ne pourra être rationalisée que lorsqu'une méthode de diagnostic sérologique spécifique d'espèce (*T. equiperdum*) sera disponible. Le dépistage à l'importation est arbitraire puisqu'il repose sur un examen non spécifique d'espèce (RFC). Dans l'état actuel des choses, la reconnaissance des signes cliniques entraîne la déclaration du foyer et, le plus souvent, l'abattage des animaux. Le recours à une technique de diagnostic peu spécifique mais suffisamment sensible (RFC, ELISA-indirecte ou IFI) permet éventuellement de limiter les abattages. La détection des porteurs sains est difficile en Amérique Latine, en particulier du fait des interférences engendrées par la présence de *T. evansi*, *T. cruzi* voire *T. vivax* chez les chevaux. En conséquence, le contrôle de la Dourine relève encore de procédés archaïques dont l'application est toujours en retard sur la dissémination du germe.

Les études menées en Guyane Française ont indiqué que la nuisance directe des **Tabanidés** suffit à justifier économiquement la mise en place de plans de lutte contre ces insectes, du fait de leur hyper-abondance saisonnière. Ces observations ne sauraient être généralisées à l'ensemble du continent, l'importance de leur impact doit être évalué localement.

Dans tous les cas, il a été observé que l'abondance des taons, même très faible, ou/et l'existence de vecteurs vicariants (stomoxes, *Haematobia*, etc.) permettent d'assurer la transmission de *T. vivax* à l'ensemble d'un troupeau de bovins en quelques jours et en toute saison. La circulation du parasite est davantage liée au niveau de parasitémie des hôtes infectants et à la réceptivité des hôtes potentiels qu'à l'abondance des vecteurs. Ce ne serait donc pas l'hyper-abondance saisonnière des taons qui autorise la transmission des trypanosomes en saison sèche, mais leur nuisance directe qui augmente la réceptivité du bétail, et provoque l'apparition de signes cliniques de trypanosomose ; on doit donc considérer la lutte contre les taons comme une lutte contre un des principaux facteurs favorisant de la trypanosomose maladie et non comme une lutte anti-vectorielle.

Etant donné la très grande attractivité des chevaux pour les taons, il est probable que ces données soient également valables pour la trypanosomose à *T. evansi* des chevaux ; des études spécifiques dans cette espèce sont toutefois nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

La lutte contre le **Derrengadera** est vouée à n'être qu'une lutte d'intervention dans les foyers déclarés de trypanosomose équine étant donné le vaste réservoir sauvage et domestique du parasite et sa transmission par les insectes hématophages cosmopolites et très difficilement contrôlables. Dans les secteurs épizootiques, le traitement systématique des animaux peut être recommandé en cas de foyer déclaré. Dans les secteurs enzootiques, le dépistage sérologique (ELISA-indirecte *T. evansi*) ou parasitologique (HCT et inoculation aux souris), la lutte contre les taons et les vampires, ainsi que le traitement du bétail sont possibles, mais il est encore difficile de se prononcer sur l'intérêt économique de telles mesures. Enfin, l'impact économique des infections à *T. evansi* chez les ruminants devra être étudié.



La lutte contre la **trypanosomose à *T. vivax* des ruminants** en Amérique Latine repose essentiellement sur les traitements trypanocides.

En milieu épizootique, aucun réservoir sauvage effectif n'ayant été confirmé à ce jour, l'éradication du parasite d'un élevage ou d'une région est recommandable, à l'aide du chlorure d'isométylamine chez tous les ruminants. Le traitement des animaux introduits dans les élevages assainis est impératif. Pour des raisons épidémiologiques les échanges internationaux de bétail issu de zones infectées doivent également être assortis de traitements stérilisants contre *T. vivax* (existence de séroformes variés selon les secteurs géographiques) et contre *T. evansi* (selon le statut infectieux respectif des pays).

En milieu enzootique, lorsque l'éradication n'est pas visée, le maintien strict de paramètres zootechniques satisfaisants (alimentation, abreuvement, prophylaxie vermineuse et détiquage), associé à la protection du bétail contre les taons (boucans, abris et aspersions insecticides) et à des traitements ponctuels des animaux les plus sensibles à l'acéturate de diminazène, suffisent à réduire l'impact de la trypanosomose bovine en-dessous d'un seuil de nuisance économique décelable.

Des essais d'éradication de *T. vivax* à l'aide du chlorure d'isométylamine dans des secteurs géographiques limités et bien contrôlés sont les prémices nécessaires à l'établissement éventuel de plus vastes programmes d'éradication.

\* \* \*

## **4 EXTENSION GEOGRAPHIQUE ET TEMPORELLE DES TRYPANOSOMOSES DU BETAIL SUR LE CONTINENT AMERICAIN**

L'extension géographique des trypanosomoses du bétail est étroitement liée à leurs modes de transmission, et se superpose généralement avec celle de leurs principaux vecteurs.

***T. cruzi*** est le seul trypanosome originaire d'Amérique qui soit trouvé significativement chez le bétail dans lequel sa réelle incidence n'est pas connue, faute de techniques de diagnostic appropriées. Bien que la maladie humaine reste typiquement sud-américaine, l'extension géographique du parasite est en cours, vers le Nord, jusqu'en Virginie où le principal support épidémiologique semble être le chien. Etant donné le très vaste réservoir domestique et sauvage du parasite, et ses modes de transmission variés (notamment pérorale), il est prévisible que *T. cruzi* conserve et étende son implantation géographique. En outre, la faible incidence clinique et la longue incubation clinique en médecine humaine font de la maladie de Chagas un fléau larvé dont l'étendue est probablement sous estimée.

La transmission vénérienne de *T. equiperdum* en fait un parasite potentiellement cosmopolite, en témoigne son introduction en Amérique du Nord et au Canada à la fin du siècle dernier. Toutefois, sa capacité d'infection réduite aux équidés a permis l'éradication du parasite des zones médicalement bien contrôlées, notamment d'Amérique du Nord. La distribution de *T. equiperdum* en Amérique est très mal documentée, notamment du fait des entraves commerciales engendrées par la déclaration de la maladie. Il est donc très difficile d'estimer aujourd'hui ses capacités d'extension.

*T. evansi* ayant une transmission mécanique par les Tabanidés, mécanique ou « biologique » par les vampires, et pérorale par ingestion de viande parasitée, sa distribution est potentiellement cosmopolite. De plus, sa capacité d'infecter des hôtes extrêmement variés lui offre une possibilité de s'implanter dans toute la faune domestique, mais également dans la faune sauvage, ce qui confère à son implantation un caractère pérenne. Introduit en Amérique du Nord et en Australie au début du siècle, il fut éradiqué avant de pouvoir s'implanter dans la faune sauvage. Si la distribution actuelle de *T. evansi* en Amérique concorde globalement avec celle des vampires, il n'est pas exclu que son extension géographique puisse se faire avec pour seul vecteur des insectes piqueurs. Bien que le Mexique se déclare indemne de trypanosomoses du bétail, les U.S.A. se doivent de maintenir un contrôle très strict de leur frontières; en témoignent les sérologies de *Trypanosoma* spp. enregistrées chez des chevaux, au Mexique, en 1996, qui n'ont jamais pu être attribuées avec certitude à une espèce précise de trypanosome (*T. equiperdum* était initialement suspecté).

En Amérique, *T. vivax* ne possède que des vecteurs mécaniques, sa distribution est potentiellement cosmopolite, mais il ne possède pas ou très peu de réservoirs autres que les ruminants domestiques ; pour ces raisons, son implantation est plus instable (en témoignent les fréquentes situations épizootiques) qu'en Afrique, et plus fragile que celle de *T. evansi*. A l'intérieur de son périmètre de distribution, l'extension géographique de *T. vivax* est en cours dans de vastes zones d'élevage extensif du centre de l'Amérique du Sud, mais elle est également possible en direction du Mexique.

En définitive il apparaît que si ces 4 parasites sont en mesure de s'étendre géographiquement, notamment vers le nord du continent américain ; *T. evansi* est toutefois le trypanosome pathogène du bétail ayant la plus grande potentialité **d'extension géographique et d'implantation durable**. Il n'est pas certain que le parasite ne soit pas déjà présent au Mexique et aux U.S.A..

Enfin, si *T. vivax* possède, **dans l'espace**, une capacité d'implantation moins profonde que *T. cruzi* et *T. evansi* (due à l'absence de réservoir sauvage), son épidémiologie particulière en Amérique, liée à sa transmission mécanique et à son immunogénicité, en font une parasite à l'origine d'une maladie capable de s'étendre **dans le temps**, sous forme de **foyers épizootiques périodiques**. Son éradication semble toutefois possible, mais elle réclamerait un usage massif de chimioprophylactiques susceptible d'engendrer des résistances à tout moment.

\* \* \*



## CONCLUSION

La connaissance des trypanosomoses du bétail en Amérique Centrale est extrêmement limitée ; la réalisation d'enquêtes épidémiologiques dans ce secteur géographique encore très peu étudié apparaît comme un objectif prioritaire.

L'importance médicale et économique des trypanosomoses du bétail en Amérique du Sud est croissante ; il est à craindre que l'extension des foyers épizootiques dus à *T. vivax* et *T. evansi* aux confins Brésil-Bolivie- Paraguay devienne une préoccupation majeure dans les dix prochaines années. Les conditions extensives d'élevage, l'absence d'expérience des éleveurs pour le contrôle de ces maladies nouvellement introduites, et l'étroitesse du spectre des trypanocides disponibles (et efficaces) ne rendront que plus difficile le contrôle de ces foyers. L'élaboration de nouvelles molécules trypanocides et la mise au point d'outils de diagnostic sensibles et spécifiques d'espèce sont des priorités pour la recherche à venir.

Une grande partie des souches africaines de *T. vivax* présentent une virulence supérieure à celle des souches américaines, ceci étant probablement lié au polymorphisme génétique (à l'origine d'une grande variété antigénique) des souches transmises de manière cyclique par les glossines ; toutefois, certaines souches africaines sont également peu virulentes.

En Afrique, il est probable que les ruminants domestiques parviennent difficilement à contrôler les trypanosomoses du fait des variants antigéniques à l'intérieur d'une espèce, de l'existence conjointe de plusieurs espèces pathogènes, et de conditions zootechniques souvent insuffisantes.

En Amérique Latine, en présence d'une seule espèce moyennement pathogène, après une période d'expression clinique, la trypanosomose à *T. vivax* des ruminants devient le plus souvent asymptomatique ; elle conduit même à l'élimination graduelle spontanée des parasites. Son épidémiologie est donc typiquement épizootique périodique. Les modes de contrôle de la trypanosomose des ruminants sur ces deux continents répondent donc à des règles différentes.

L'utilisation des nouveaux outils de caractérisation des souches de trypanosomes, notamment l'étude des empreintes obtenues en PCR à l'aide d'amorces arbitraires (AP-PCR), a montré un très faible polymorphisme des souches sud-américaines étudiées, a suggéré l'existence d'un lien entre sensibilité à un trypanocide et empreinte AP-PCR, mais n'a pas permis de mettre en relation immunogénicité et empreinte AP-PCR. La mise au point de nouvelles amorces arbitraires doit viser à appréhender des caractéristiques concrètes des souches (résistance aux trypanocides, répertoire antigénique et/ou polymorphisme génétique) qui trouveront leur application dans les mesures de contrôle. Ainsi, un outil de diagnostic épidémiologique nouveau, rapide et économique, permettrait d'effectuer le choix de la stratégie immunitaire et de l'utilisation des trypanocides.

En Afrique, dans les secteurs peu ou non infectés par les glossines *T. vivax* est l'espèce prépondérante (LEEFLANG, 1975), probablement du fait qu'il s'adapte le mieux à la transmission mécanique. La technique AP-PCR pourrait être développée afin de déterminer le polymorphisme génétique des souches de terrain et appréhender leur répertoire antigénique ; un polymorphisme faible pourra orienter la lutte vers une chimiothérapie non stérilisante, avec l'objectif principal d'une immunité de prémunition, alors qu'un polymorphisme important orienterait vers une chimioprophylaxie stérilisante.

Les techniques de contrôle des trypanosomoses humaine et animale ont souvent évolué en parallèle. L'étude des croisement sérologiques chez diverses espèces a amené à la mise au point d'un test de détection des infections à *T. cruzi* chez l'homme par une technique voisine de celle utilisée chez les animaux pour la détection des infections à *T. evansi* (ELISA-indirecte *T. evansi*). La production des antigènes et la réalisation du test sont simples et peu onéreuses, contrairement aux tests homologues actuellement disponibles. Cette technique pourrait permettre de tester systématiquement les échantillons sanguins des donneurs de sang et de réaliser des enquêtes séro-épidémiologiques dans les populations à risque en Amérique Latine. La technique a déjà attiré l'attention de certains laboratoires par l'intermédiaire du TRYPNEWS<sup>20</sup>, et à l'occasion du « premier symposium sur les trypanosomes du Nouveau Monde »<sup>21</sup>.

---

<sup>20</sup> Newsletter of the hemoparasite information network

<sup>21</sup> « First symposium on New World trypanosomes », 20-22 novembre 1996, Georgetown, Guyana.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(liste des références citées dans le texte)

1. ADAMS, A. R. D. (1935). Trypanosomiasis of stock in Mauritius. 1. *Trypanosoma vivax*, a parasite of local stock. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **29**, 1-18.
2. AGUDELO, M. T. M., MOGOLLON, J. D. G., TORRES, L. E. H., PENA, N. E. B., y BARRERA, J. M. (1984). Prevalencia de *Trypanosoma vivax* en bovinos de Villavicencio. Por pruebas parasitológicas directas y por inmunofluorescencia indirecta. *Revista ICA* **19**, 33-37.
3. ALCAINO, T. V., LORCA, M., NUNEZ, F., ISSOTTA, A. and GORMAN, T. (1995). Chagas' disease in goats from the Metropolitan region (Chile): Seroepidemiological survey and experimental infection. *Parasitologia al Dia* **19**, 30-36.
4. ALGER, N.E. and CABRERA, E.J. (1972). An increase in death rate of *Anopheles stephensi* fed on rabbits immunized with mosquito antigen; *J. Econ. Entomol.*, **65**, 165-168.
5. ALLEN, J.R. and HUMPHREYS, S.J. (1979). Immunisation of guinea pigs and cattle against ticks; *Nature*, **280**, 491-493.
6. ALLSOPP, B. A. and NEWTON, S. D. (1985). Characterization of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* by isoenzyme analysis. *Int. J. Parasitol.* **15**, 265-270.
7. ALONSO, M., CAMUS, E., RODRIGUEZ DIEGO, J., BERTAUDIERE, L., TATAREAU, J. C. et LIABEUF, J. M. (1992). Situation actuelle des hémoparasitoses bovines en Martinique (Antilles française). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* **45**, 9-14.
8. AL-TAQI, M. M. (1989). Characterization of *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* from dromadery camels in Kuwait by isoenzyme electrophoresis. *Vet. Parasitol.* **32**, 247-253.
9. Anonyme (1978). Proposals for the nomenclature of salivarian trypanosomes and for maintenance of reference collections. *Bull. World Hlth. Org.* **56**, 467-480.
10. Anonyme (1991 a). Lutte contre la maladie de Chagas. O.M.S., Série de Rapports techniques, Genève, **811**, 106 pages.
11. Anonyme (1991 b). Diagnostic et traitement des trypanosomoses animales en Afrique. II. Le traitement; in: *Fiches techniques d'élevage tropical*, Ministère de la Coopération et du Développement, IEMVT-CIRAD, **7**, 4 pages.
12. Anonyme (1993). CARAPHIN Animal Health (Caribbean Animal and Plant Health Information Network), IICA, Port of Spain, Trinidad et Tobago; July-December 1993; 69 pages.
13. Anonyme (1994). CARAPHIN Animal Health (Caribbean Animal and Plant Health Information Network), IICA, Trincity, Trinidad et Tobago; July-December 1994; 44 pages.
14. Anonyme, (1995 b). Songs of praise. in: Taking stock; International Livestock Research Institute; Nairobi, Kenya; October 1995, p. 2.
15. Anonyme (1997). OIE, 65<sup>ème</sup> session générale, Paris, 26-30 mai 1997, Document 65 SG/2, p. 11.
16. ANOSA, V. O. (1983). Diseases produced by *Trypanosoma vivax* in ruminants, horses and rodents. *Zbl. Vet. Med. B.* **30**, 717-741.
17. APPLEWHAITE, L. M. (1990). Small ruminant trypanosomiasis in Guyana. A preliminary report. *Br. Vet. J.* **146**, 93-94.
18. ARTAMA, W. T., AGEY, M. W. and DONELSON, J. E. (1992). DNA comparisons of *Trypanosoma evansi* (Indonesia) and *Trypanosoma brucei* spp. *Parasitology* **104**, 67-74.
19. AUTHIE, E., MUTETI, D. K. and WILLIAMS, J. L. (1993 a). Antibody responses to invariant antigens of *Trypanosoma congolense* in cattle of differing susceptibility to trypanosomiasis. *Parasite immunology*, **15**, 101-111.
20. AUTHIE, E., DUVALLET, G., ROBERTSON, C. and WILLIAMS, D. (1993 b). Antibody responses to a 33 kDa cysteine protease of *Trypanosoma congolense* : relationship to « trypanotolerance » in cattle. *Parasite immunology*, **15**, 465-474.
21. AUTHIE, E., BOULANGE, A., TAYLOR, K., LUTJE, V., DUVALLET, G. and WILLIAMS, D. (1993 c). Immune responses of trypanotolerant taurine and trypanosusceptible zebu cattle to two major invariant antigens of *Trypanosoma congolense*. *Proceedings of the 22<sup>nd</sup> meeting of the International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control (ISCTRC)*, 25-29 October 1993, p. 5.6.
22. BAGSTER, I. A. and PARR, C. W. (1973). Trypanosome identification by electrophoresis of soluble enzymes. *Nature* **244**, 384-386.



23. BAILEY, J. W. and SMITH, D. H. (1992). The use of the acridine orange QBC technique in the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **86**, 630.
24. BAILEY, J. W. and SMITH, D. H. (1996). The quantitative buffy coat for the diagnosis of trypanosomes. *Tropical Doctor* **24**, 54-56.
25. BAJYANA SONGA, E. and HAMERS, R. (1988). A card agglutination test (CATT) for veterinary use based on an early vat RoTat 1/2 of *Trypanosoma evansi*. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.* **68**, 233-240.
26. BAJYANA SONGA, E., HAMERS-CASTERMAN, C., HAMERS, R., PHOLPARK, M., PHOLPARK, S., LEIDL, K., TANGCHAITRONG, S., CHAICHANOPOONPOL, I., VITOORAKOOL, C., and THIRAPATSAKUM, T. (1987). The use of the card agglutination test (Testtryp CATT) for the detection of *T. evansi* infection: a comparison with other trypanosomiasis diagnostic tests under field conditions in Thailand. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.* **67**, 137-148.
27. BAJYANA SONGA, E., PAINDAVOINE, P., WITTOUK, E., VISESHAKUL, N., MULDERMANS, S., STEINERT, M., and HAMERS, R. (1990). Evidence for kinetoplast and nuclear DNA homogeneity in *Trypanosoma evansi* isolates. *Mol. biochem. parasitol.* **43**, 167-180.
28. BAKOS, E. y BUSTAMANTE, A. (1982). Detección de títulos serológicos anti *Trypanosoma equinum* en equinos; I y II *Gac. Vet. B. Aires* **368**, 175-180.
29. BAKOS, E., CITRONI, E., y BUSTAMANTE, A. (1992). Hallazgo de un *Trypanosomatidae* similar al *Trypanosoma vivax* (Ziemann 1905). *Veterinaria Argentina* **9**, 24-27.
30. BALTZ, T., BALTZ, D., GIROUD, C. and CROCKETT, J. (1985). Cultivation in a semi-defined medium of animal infective forms of *Trypanosoma brucei*, *T. equiperdum*, *T. evansi*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. *EMBO. J.* **4**, 1273-1277.
31. BARR, S. C., VAN BEEK, O., CARLISLE NOWAK, M. S., KIRCHHOFF, L. V., ALLISON, N., ZAJAC, A., LAHUNTA, A. (de), SCHLAFFER, D. H. and CRANDALL, W. T. (1995). *Trypanosoma cruzi* infection in Walker Hounds from Virginia. *Am. J. Vet. Res.* **56**, 1037-1044.
32. BARRY, J. D. and GATHUO, H. (1984). Antigenic variation in *Trypanosoma vivax*: isolation of a serodeme. *Parasitology*, **89**, 49-58.
33. BAUER, F. (1962). The development of drug resistance to berenil in *Trypanosoma congolense*. *The veterinary record* **74**, 265-266.
34. BAUER, B., AMSLER-DELAFOSSÉ, S., CLAUSEN, P., KABORE, I. and PETRICH-BAUER, J. (1995). Successful application of deltamethrin pour on to cattle in a campaign against tsetse flies (*Glossina* spp.) in the pastoral zone of Samorogouan, Burkina Faso. *Trop. Med. Parasitol.* **46**, 183-189.
35. BAY, D. E., RONALD, N. C. and HARRIS, R. L. (1976). Evaluation of a synthetic pyrethroid for Tabanid control on horses and cattle. *Southwest. Entomol.* **1**, 198-203.
36. BENGALY, Z., CLAUSEN, P. H., BOLY, H., KANWE, A. et DUVALLET, G. (1993). Comparaison de la trypanosomose expérimentale chez certaines races de petits ruminants au Burkina Faso. *Revue Elev. Méd. vét. Pays Trop.*, **46**, 563-570.
37. BERNY, P. et SAINT-PRIX, M. (1935). Une épizootie à *Trypanosoma guyanense* au bourg de Regina (Guyane française). *Bull. soc. path. exot.* **28**, 708-710.
38. BETANCOURT, A. E. (1978 a), Studies on the epidemiology and economic importance of *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in Colombia. Texas A. & M. University, Thesis.
39. BETANCOURT, A. E. (1978 b). Transmisión prenatal del *Trypanosoma vivax* de bovinos en Colombia. *Revista ICA Bogota (Colombia)* **13**, 127-129.
40. BETANCOURT, A. E. and JULIO, T. M. (1979). La técnica de centrifugación en tubo capilar en el diagnóstico de infecciones naturales por *Trypanosoma* sp. *Revista ICA Bogota (Colombia)* **14**, 105-108.
41. BETANCOURT, A. E. and WELLS, E. A. (1979). Pérdidas económicas en un brote de trypanosomiasis bovina causada por *Trypanosoma vivax*. *Revista Acovez* **3**, 6-9.
42. BETANCOURT, A. E., RAMÍREZ, L. E., WELLS, E. A., and BAZALAR, H. (1979). La técnica de centrifugación en tubo capilar en el diagnóstico de tripanosomiasis experimental. *Revista ICA Bogota (Colombia)* **14**, 97-104.
43. BHASKARA RAO, T., BALARAMA RAJU, P., HARARAMA DAS, J. and HAFEEZ, Md. (1995) Some observations on an outbreak of surra in circus tigers. *Indian Vet. J.* **72**, 1210-1221.
44. BLANC, F., GALL, (Le) F. et CUISANCE, D. (1995). La lutte par piégeage contre *Glossina fuscipes fuscipes* pour la protection de l'élevage en République centrafricaine. V. Essai d'analyse coût-bénéfice du programme. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **48**, 327-338.
45. BISHOP, S., RAE, P. F., PHIPPS, L. P., BOLD, R. and LUCKINS, A. G. (1995). *Trypanosoma equiperdum*: detection of trypanosomal antibodies and antigen by enzyme-linked immunosorbent assay. *Br. vet. J.* **151**, 715-720.
46. BISWAS, R. K. and HUNTER, A. G. (1993). Effect of stage of infection with *Trypanosoma evansi* on Cymelarsan therapy. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **25**, 223-224.
47. BOCQUENTIN, R. et DUVALLET, G. (1990). Amélioration de la reproductibilité du test ELISA adapté à la détection d'anticorps anti-*Trypanosoma congolense* chez les bovins. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **43**, 179-186.
48. BOCQUENTIN, R., DUVALLET, C. et BALTZ, T. (1989). Une méthode sensible de détection des trypanosomes : lyse avec détergent-centrifugation. 20<sup>ème</sup> conférence de l'OUA/CSIRTC, Mombasa, Kenya; 10-14 avril 1989; 10 p.
49. BOCQUENTIN, R., VERY, P. et DUVALLET, G. (1990). Cinétique des anticorps après traitement trypanocide chez les bovins infectés expérimentalement ou naturellement. Intérêt épidémiologique. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **43**, 179-186.
50. BOEHRINGER, E. G. and PROSEN, A. F. (1961). Transmisión experimental del Mal de Caderas. *An. Inst. Med. Region. Argentina* **5**, 69.
51. BOLD, R. (1985). Isoenzyme analysis of stocks of trypanosomes isolated from cattle in Indonesia. *Research in veterinary science* **39**, 388-389.



52. BOLD, R. (1988). Isoenzyme characterisation of 15 stocks of *Trypanosoma evansi* isolated from camels in the Sudan. *Trop. Med. Parasitol.* **39**, 45-50.
53. BOSOMPEM, K.M., ASSOKU, R. K.G., and NANTULYA, V.M. (1996 a). Differentiation between culture-derived insect stages of *T. brucei*, *T. vivax*, *T. congolense* and *T. simiae* using a monoclonal antibody-based dot-ELISA. *Parasitology* **112**, 59-66.
54. BOSOMPEM, K.M., MASAKE, R.A., ASSOKU, R. K.G., OPIYO, E.A. and NANTULYA, V.M. (1996 b). Field evaluation of a dot-ELISA for the detection and differentiation of trypanosome species in infected tsetse flies (*Glossina* spp.) *Parasitology* **112**, 205-211.
55. BOUET, G. et ROUBAUD, E. (1912). Expériences de transmission des trypanosomiasés animales d'Afrique occidentale française par les stomoxes. *Bull. Soc. Path. Exot.* **5**, 544-550.
56. BOY, V. and DUNCAN, P. (1979). Time-budgets of Camargue horses. I. Developmental changes in the time-budgets of foals. *Behaviour* **71**, 187-202.
57. BRENIERE, S. F., BOSSENSO, M. F., BARNABE, S., URDANETA MORALES, S., and TIBAYRENC, M. (1993). Copy number differences in the 195 BP repeated satellite DNA from *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*: potential use for epidemiologic surveys. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **88**, 163-165.
58. BRINGAUD, F., PARZY, D., BALTZ, D., TETAUD, E. et BALTZ, T. (1997). Développement d'une stratégie permettant le clonage de nouveaux gènes d'intérêt chez les trypanosomes africains. In : Réunion de parasitologie MENESR/DGA-DSP : « Cibles thérapeutiques et vaccinales en parasitologie : paludisme, leishmaniose, trypanosomose, schistosomiose » ; 5-6 février 1997, Bordeaux, 1 p.
59. BRUCE, W. N. and DECKER, G. C. (1951). Tabanid control on dairy and beef cattle with synergized pyrethrins. *J. econ. Entomol.* **44**, 154-159.
60. BWANGAMOI, O., BUORO, I. B. J., PRICE, J. E., DaCOSTA, R. P. R., and MBUGUA, S. W. (1989). Natural *Trypanosoma vivax* infection in a domestic cat in Nairobi. *Bull. Anim. Hlth. Prod. Africa*, numéro spécial, 147-157.
61. CAMUS, E. (1983). Diagnostic de la trypanosomose bovine sur le terrain par la méthode de centrifugation hématocrite. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **2**, 751-769.
62. CAMUS, E. et CREPIN, C. (1990). *Trypanosoma vivax* diagnostics in French Guyana. In : Joint IFS/IAEA/FAO workshop on Animal Disease Diagnostics in Latin America; San Jose, Costa Rica; October 22-November 2, 1990; Abstract, 1 p.
63. CAMUS, E. et MARTRENCAR, A. (1990). Infection expérimentale de zébus guyanais avec *Trypanosoma vivax*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* **43**, 467-472.
64. CAMUS, E. et RAYMOND, H. L. (1995). La pathologie bovine en Guyane. In: VIVIER, M., VISSAC, B. et MATHERON, G. (Ed. sc.); L'élevage bovin en Guyane: Une innovation majeure dans un milieu équatorial de plaine; 1975-1990; Montpellier, CIRAD/INRA, 97-112.
65. CAMUS, E., BARRE, N., DUVALLET, G., SANITE, L., FAVRE, J., and ALEXANDRE, P. (1987). Les maladies bovines transmises par les arthropodes en Guyane. In: Systèmes d'élevage herbager en milieu équatorial (Cayenne, 9-10 décembre 1985). Colloque INRA /CIRAD/ORSTOM, INRA publications, Paris 1987, 311-319.
66. CAPOREALE, V. P., BIANCIFIORI, F., FRESCURA, F., DIMATTEO, A., NANNINI, D. and URBANI, G. (1981). Comparison of various tests for the serological diagnosis of *Trypanosoma equiperdum* infection in the horse. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* **4**, 243-246.
67. CAROUGEAU, M. (1929). Trypanosomiasé bovine à la Martinique. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 246- 247.
68. CHALLIER, A. et LAVEISSIERE, C. (1973). Un nouveau piège pour la capture des glossines (*Glossina* : *Diptera*, *Muscidae*) : description et essais sur le terrain. *Cah. ORSTOM, Sér. Ent. Méd. et Parasitol.* **11**, 251-262.
69. CLARKSON, M. J. (1976). Trypanosomiasis of domesticated animals of South America. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **70**, 125-126.
70. CLARKSON, M. J., McCABE, W. and COLINA, H. S. (1971 a). Bovine trypanosomiasis in Venezuela. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **65**, 257.
71. CLARKSON, M. J., COTTRELL, B. A., and ENAYAT, M. S. (1971 b). The indirect haeamagglutination test in the study of *Trypanosoma vivax* infections of sheep. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **65**, 335-340.
72. COCKERELL, T. D. A. (1919). New species of North American fossil Beetles, Cockroaches and Tsetse Flies. *Proc. U.S. Nat. Mus.* **54** (2337) 301-311.
73. CODJIA, V., MULATU, W., MAJIWA, P. A. O., LEAK, S. G. A., ROWLANDS, G. J., AUTHIÉ, E., IETEREN d', G. D. M., and PEREGRINE, A. S. (1993). Epidemiology of bovine trypanosomiasis in the Ghibe valley, Southwest Ethiopia. 3. Occurrence of populations of *Trypanosoma congolense* resistant to diminazen, isometamidium and homidium. *Acta trop.* **53**, 151-163.
74. COLAS-BELCOUR, J. (1938). Note sur *Trypanosoma viennei* LAVIER 1921 = *T. guyanense* LEGER et VIENNE 1919. *Bull. Soc. Pat. exotique* **31**, 369-374.
75. CORDOVES, C.O., FERNANDEZ, C. GARCIA, A.J. y GONZALEZ, B.R. (1982). *Trypanosoma vivax*, Ziemann, 1905. Lista de transmisores mecanicos en Cuba. *Revista Cubana de Ciencias Veterinarias* **13**, 219-221.
76. CORMIER, P. P. (1991). Les plantes alimentaires, toxiques et médicinales: leur incidence sur l'élevage guyanais. Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse 1991, 130 p.
77. CORREA, V., BRICENO, J., ZUNIGA, J., ARANDA, J. C., VALDÉS, J., CARMEN CONTRERAS, M. (del), SCHENONE, H., VILLARROEL, F. y ROJAS, A. (1982). Infeccion por *Trypanosoma cruzi* en animales domesticos de sectores rurales de la IV region, Chile. *Bol. Chile Parasit.* **37**, 27-28.
78. CREPIN, C. (1990). Rapport d'activité IEMVT-CIRAD, Guyane, avril 1989-juillet 1990; 20 pages. Non publié.
79. CRESPO, A. F., VANELLA, BLOOD Y DE CARLO (1961). Observaciones ecologicos del vampiro *Desmodus rotundus* en el norte de Cordesa, Argentina. *Rev. Mac. Arg. Cienc. Nat., Bern Rivad, Cien. zool.* **6**, 131-153.
80. CURASSON, G. (1925). *Trypanosoma theileri* au Soudan Français. *Bull. Soc. Path. exot.* **18**, 823.



81. CURASSON, G. (1943). *Trypanosoma vivax* et variétés. In: Traité de protozoologie vétérinaire et comparée. Tome I Trypanosomes. Ed Vigot Frères, Paris, 270-278.
82. CUISANCE, D. (1989). Le piégeage des tsé-tsé. Études et synthèses N°32, IEMVT, Maisons-Alfort, 172 pages.
83. CUISANCE, D. (1994). Etude de la trypanosomose animale sans glossines dans le Nord-Cameroun. *Ministère de la coopération*; 1-24.
84. CUISANCE, D. (1995). Note pédagogique: L'évaluation des tests de diagnostic: quels indices peut-on calculer ? *Bull. liais. doc. OCEAC* **28**, 3135.
85. CUISANCE, D. (1996). Les grandes endémies parasitaires à transmission vectorielles ; Lutte contre les tsé-tsé. Cours de DEA de parasitologie 1996; 31 pages (non publié).
86. D'AMICO, F., GOUTEUX, J. P., LE GALL, F. and CUISANCE, D. (1996). Are stable flies (Diptera: Stomoxyinae) vectors of *Trypanosoma vivax* in the Central African Republic. *Vet. Res.* **27**, 161-170.
87. DALEY, C. A. (1971). A sequential study of the pathogenesis of disease caused by *Trypanosoma vivax* in experimentally infected calves, utilizing clinical, pathological, histopathological and immunofluorescent techniques. Master of science thesis; Texas A. & M. University, May 1971, 60 p.
88. DARLING, S. T. (1910). Equine trypanosomiasis in the Canal Zone. *Bull. Soc. Path. exot.* **3**, 381.
89. DAVIDSON, S. (1985). Towards a vaccine for the cattle tick; *Rural Research*, **128**, 4-8.
90. DAVILA, A. M. R., RAMIREZ, L. and SILVA, R. A. M. S. (1996). Partial protection against homologous *Trypanosoma evansi* stock. *Trypnews*, **3**, 9-11.
91. DAVILA, A. M. R., RAMIREZ, L. and SILVA, R. A. M. S. (1997). Biometrics of *Trypanosoma vivax* from Brazil and Bolivia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* j. in press.
92. DE GEE, A. L. W. and SHAH, S. M. (1979). *Trypanosoma vivax* and immunosuppression. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.* **59**, 199-201.
93. DEDET, J. P., CHIPPAUX, J. P., GOYOT, P., PAJOT, F. X., TIBAYRENC, M., GEOFFROY, B., GOSSELIN, H. et JACQUET-VIALLET, P. (1985). Les hôtes naturels de *Trypanosoma cruzi* en Guyane Française. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* **60**, 111-117.
94. DELAFOSSE, A., BENGALY, Z. et DUVALLET, G. (1995) Absence d'interaction des infections à *Trypanosoma theileri* avec le diagnostic des trypanosomoses animales par détection des antigènes circulants. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* **48**, 18-20.
95. DESOWITZ, R. S. and WATSON, H. J. C. (1951). Studies on *Trypanosoma vivax*. 1. Susceptibility on white rats to infection. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **45**, 207-219.
96. DESQUESNES, M. (1990). Note sur des essais d'immunisation de lapins contre des tsé-tsés, *Glossina fuscipes fuscipes* (Diptera: Glossinidae). *Rev. El. Méd. Vét. Pays Trop.* **43**, 511-513.
97. DESQUESNES, M. (1991 a). La Tique du Bétail: *Boophilus microplus*. Publication IEMVT-Guyane, Cayenne, Guyane Française; Octobre 1991; 22 p.
98. DESQUESNES, M. (1991 b). Report on activities in ILRAD by Marc Desquesnes in June and August 1991. ILRAD, Nairobi, Kenya; 14 pages (non publié).
99. DESQUESNES, M. (1994 a). Report on activities of M. DESQUESNES in ILRAD, February-April 1994. ILRAD, Nairobi, Kenya, 27 pages (non publié).
100. DESQUESNES, M. (1994 b). The cattle tick: *Boophilus microplus*. Traduit en Anglais par S. VOKATY, Publication IICA/CIRAD-EMVT, Georgetown, Guyana, 24 p.
101. DESQUESNES, M. (1995). Evaluation of three antigen detection tests (monoclonal trapping ELISA) for African trypanosomes, with an isolate of *T. vivax* from French Guyana. In : *Program and Abstracts of papers and posters, 3<sup>rd</sup> biennial meeting of STVM, 8-12 May 1995, San José, Costa Rica*; p. 27.
102. DESQUESNES, M. (1996). Evaluation of three antigen detection tests (monoclonal trapping ELISA) for African trypanosomes, with an isolate of *T. vivax* from French Guyana. *Annals of the New York Academy of Sciences* **791**, 172-184.
103. DESQUESNES, M. (1997 a). Evaluation of a simple PCR technique for the diagnosis of *Trypanosoma vivax* in the serum of cattle in comparison to parasitological techniques and antigen-enzyme linked immunosorbent assay (Ag-ELISA). *Acta Tropica*, **65**, 139-148.
104. DESQUESNES, M. (1997 b). Propositions pour la standardisation et l'interprétation des ELISA-indirectes (indirect-enzyme linked immunosorbent assays). *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* (sous presse).
105. DESQUESNES, M. et GARDINER, P. R. (1993). Epidémiologie de la trypanosomose bovine (*Trypanosoma vivax*) en Guyane française. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **46**, 463-470.
106. DESQUESNES, M. et GARRAIN, C. (1997 a). Origin and distribution of New World livestock trypanosomes and their affinity for some mammalian host. In : *Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes* ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; 5 p. (sous presse).
107. DESQUESNES, M. et GARRAIN, C. (1997 b). Laboratoire de Référence et Réseau d'information sur les hémoparasites dans les Guyanes ; Rapport FIC 1996 ; CIRAD-EMVT-Guyane, Kourou, Guyane Française, 18 p., non publié.
108. DESQUESNES, M. et LA ROCQUE, S. (de) (1992). Les taons de Guyane: biologie, importance vétérinaire et méthodes de lutte. Publication CIRAD-EMVT, Cayenne, Guyane Française, 29 p.
109. DESQUESNES, M. et LA ROCQUE, S. (de) (1993 a). Les hémoparasitoses des bovins en Guyane Française, importance vétérinaire et méthodes de contrôle. Publication CIRAD-EMVT; Cayenne, Guyane Française, 23 p.
110. DESQUESNES, M. and LA ROCQUE (de), S. (1993 b). Horseflies of the Guyanas, biology, veterinary significance and control methods. Translated and edited by Dr S. VOKATY; IICA, Georgetown, Guyana, 33 p.
111. DESQUESNES, M. et LA ROCQUE, S. (de) (1994 a). Compte-rendu de la mise en place du Laboratoire de Référence et du réseau d'information des hémoparasitoses du bétail dans les Guyanes. Rapport FEDER 93, CIRAD-EMVT-Guyane, Cayenne, Guyane Française, 21 p. (non publié).



112. DESQUESNES, M. y LA ROCQUE, S. (de) (1994 b). Los tabanos de las guyanas, biología, morfología e importancia en la producción animal y métodos de control. Traduit en espagnol par le Dr Hector MUNOZ, IICA, Paramaribo, Suriname, 31 p.
113. DESQUESNES, M. et LA ROCQUE, S. (de) (1995). Comparaison de la sensibilité du test de WOO et d'un test de détection des antigènes de *Trypanosoma vivax* chez deux moutons expérimentalement infectés avec une souche guyanaise du parasite. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.* **48**, 247-253.
114. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1995 a). Advanced Haemoparasite Diagnostic Training Course. Annexe technique au rapport FIC 94. Publication CIRAD-EMVT-Guyane, Cayenne, Guyane Française, 46 p. (non publié).
115. DESQUESNES, M. et TRESSE, L. (1995 b). Laboratoire de Référence et réseau d'information sur les hémoparasitoses dans les Guyanes. Rapport FIC 94; publication CIRAD-EMVT-Guyane, Cayenne, Guyane Française, 14 p. (non publié).
116. DESQUESNES, M. et TRESSE, L. (1996 a). Evaluation de la sensibilité du test de WOO pour la détection de *Trypanosoma vivax*. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.* **49**, 315-321.
117. DESQUESNES, M. et TRESSE, L. (1996 b). Evaluation de la sensibilité de la PCR pour la détection de l'ADN de *Trypanosoma vivax* selon divers modes de préparation des échantillons sanguins. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.* **49**, 322-327.
118. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1997). Utilisation of *T. evansi* antigens in indirect-ELISA for diagnosis of Chagas disease in humans. In: Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes; 20-22 November, Georgetown, Guyana; (sous presse).
119. DESQUESNES, M. et VIGNON, L. (1987). Essai d'un vaccin contre la tique du bétail: *Boophilus microplus*. *Revue UPRA Nouvelle-Calédonie*, **12**, 23-28.
120. DESQUESNES, M., LA ROCQUE, S. (de) et GOUREAU, L. (1993). Compte-rendu de l'enquête épidémiologique sur les hémoparasitoses bovines en Guyane Française (Trypanosomoses, anaplasmoses et babésioses). Rapport CORDET 91-92; CIRAD-EMVT-Guyane, Cayenne, Guyane Française, 48 p. (non publié).
121. DESQUESNES, M., LA ROCQUE de, S., and PEREGRINE, A. S. (1995). French Guyanan isolate of *Trypanosoma vivax* resistant to diminazene aceturate but sensitive to isometamidium chloride. *Acta Tropica* **60**, 133-136.
122. DIAL, O. (1993). Camel trypanosomiasis in Mali; Contribution to the diagnosis and the epidemiology. Thèse de Doctorat en Sciences, Instituut voor moleculaire biologie, Vrije Universiteit, Bruxelles, 92 ps.
123. DIAL, O., DIARRA, B. and SANOGO, Y. (1993). Evaluation of monoclonal antibody-based antigen detection immunoassays for the diagnosis of *Trypanosoma congolense* and *T. vivax* in Mali. In: Improving the diagnosis and control of trypanosomiasis and other vector-borne diseases of African livestock using immunoassay methods; IAEA-TECDOC 707, June 1993; 65-68.
124. DIAL, O., NANTULYA, V.M., LUCKINS, A.G., DIARRA, B. and KOUYATE, B. (1992). Evaluation of mono- and polyclonal antibody-based antigen detection immunoassays for diagnosis of *Trypanosoma evansi* infection in the dromedary camel. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.* **45**, 149-153.
125. DIAS, E. (1940). Transmissão do *Schizotrypanum cruzi* entre vertebrados por via digestiva. *Brasil Medico*, **54**, 775.
126. DICKIN, S. and GIBSON, W. (1989). Hybridisation with a repetitive DNA probe reveals the presence of small chromosomes in *Trypanosoma vivax*. *Mol. Biochem. Parasitology* **33**, 135-142.
127. DIDONET-LAU, H. and LAU, H. D. (1988). Symptoms and treatment of trypanosomiasis (*Trypanosoma vivax*) in buffaloes. *Boletim de Pesquisa, CPATU, EMBRAPA, Brazil*, **90**, 13.
128. DIRIE, M., MURPHY, N. B. and GARDINER, P. R. (1993 a). DNA fingerprinting of *Trypanosoma vivax* isolates rapidly identifies intraspecific relationships. *J. Euk. Microbiol.* **40**, 132-134.
129. DIRIE, M. F., OTTE, M. J., THATHI, R., and GARDINER, P. R. (1993 b). Comparative studies of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* isolates from Colombia. *Parasitology* **106**, 21-29.
130. DIRIE, M., OTTE, J., DESQUESNES, M., GARDINER, P., THATHI, R. ADEMA, A. (1991). Studies of *T. vivax* from South America. In: ILRAD Annual Scientific Report 1991, Nairobi, Kenya, p. 43.
131. DIXON, J. B., CULL, R. S., DUNBAR, I. F., GREENHILL, R. J., GRIMSHAW, C. G., HILL, M. A., LANDEG, F. J. and MILLER, W. M. (1971) Non-cyclical transmission of trypanosomiasis in Uganda. *Vet. Rec.* **89**, 228-233.
132. DOKU, C. K. (1993). The use of antigen-detection ELISA (Ag-ELISA) in diagnosing bovine trypanosomiasis and assessing the efficacy of chemotherapy in North West Ghana. In: Improving the diagnosis and control of trypanosomiasis and other vector-borne diseases of African livestock using immunoassay methods; IAEA-TECDOC 707, June 1993; 59-64.
133. DUNO, F., GARCIA, F. & RIVERA, M. (1992). Epidemiological aspects of bovine trypanosomiasis in Falcon State, Venezuela. In: *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 184.
134. ELHASSAN, E., IKEDE, B. O. and ADEYEMO, O. (1995). Trypanosomiasis and reproduction: II. Effect of *Trypanosoma vivax* infection on pregnancy and post-partum cyclicity in ewes. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **27**, 9-14.
135. ENGVAL, E. and PERLMANN, P. (1971). Enzyme linked immunosorbent assay: quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, **8**, 871.
136. EISLER, M. C., MURILLA, G., PEREGRINE, A. S., HOLMES, P. H., NDUNG'U, J., MOLOO, S. K., GAULT, E. A. and KEMEL, S. (1993). Development of ELISAs for isometamidium and isometamidium. *ILRAD 1993, Annual scientific report*, p. 62.
137. EISLER, M. C., AROWOLO, R. O. A., GAULT, E. A., MOLOO, S. K., HOLMES, P. H. and PEREGRINE, A. S. (1994). Isometamidium concentrations in the sera of Boran cattle: correlation with prophylaxis against tsetse-transmitted *Trypanosoma congolense*. *Acta Tropica*, **56**, 39-50.
138. EISLER, M., MARUTA, J., NQINDI, J., CONNOR, R. J., USHEWOKUNZE-OBATOLU, U., HOLMES, P. H. & PEREGRINE, A. S. (1996). Isometamidium concentrations in the sera of cattle maintained under a chemoprophylactic regime in a tsetse-infested area of Zimbabwe. *Trop. Med. Int. Hlth.*, **1**, 535-541.



139. ESPARTACO SANDOVAL, ESPINOZA, E. y ALBERTO VALLE (1995). Parasitemia y comportamiento clinico en ovejas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. *Veterinaria Tropical*, **20**, 67-84.
140. ESPINOZA, E. y ASO, P.M. (1992). Valores hematologicos de bovinos infectados experimentalmente con un aislado venezolano de *Trypanosoma vivax*. II. Leucocitos. *Rev. Salud. Anim.* **14**, 41-49.
141. ESPINOZA, E., ASO, P.M., y CAMACARO, E. (1992). Valores hematologicos de bovinos infectados experimentalmente con un aislado venezolano de *Trypanosoma vivax*. I. Eritrocitos. *Rev. Salud. Anim.* **14**, 31-39.
142. EVENS, F. M. (1953). Dispersion géographique des glossines au Congo Belge. *Inst. Roy. Sci. Nat. Bel.* **2**, 48.
143. FABRE, H. et BERNARD, M. (1926). Sur un nouveau foyer de trypanosomiase bovine observé à la Guadeloupe. *Bull. soc. path. Exot.* **19**, 435-437.
144. FABRE, H. (1929). Note complémentaire sur la trypanosomiase bovine à la Guadeloupe *Bull. soc. path. Exot.* **22**, 668-669.
145. FAO/IAEA (1993). Improving the diagnosis and control of trypanosomiasis and other vector-borne diseases of african livestock using immunoassay methods. *FAO/IAEA/DGIS research programme IAEA-TECDOC-707*, IAEA, Vienna, 1-175.
146. FAO/IAEA (1994 a). Establishment of external quality assurance procedures for use with FAO/IAEA ELISA kits. *FAO/IAEA*, 1-15.
147. FAO/IAEA (1994 b). Trypanosomiasis ELISA kit. Direct sandwich enzyme immunoassay for the detection of antigens of *T. brucei*, *T. congolense* and *T. vivax*. *FAO/IAEA*, 1-50.
148. FAO/IAEA (1994 c). Guidelines on the use of FAO/IAEA ELISA kits. *FAO/IAEA*, 1-29.
149. FAO/IAEA (1994 d). Work plans of participants in FAO/IAEA coordinated research programme and regional technical cooperation project (RAF/5/028) on diagnosis and control of animal trypanosomiasis in Africa ; 1-36.
150. FASOGBON, A. I., KNOWLES, G., and GARDINER, P. R. (1990). A comparison of the isoenzymes of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* isolates from East and West Africa. *Int. J. Parasitol.* **20**, 389-394.
151. FAVRE, J. et SANITE, L. (1985). Aspects sanitaires de l'élevage zébu en Guyane. In: Prairies guyanaises et élevage bovin (Cayenne, 15-16 décembre 1981). Colloque INRA n° 24, INRA publications, Versailles, 207-310.
152. FAYE, J. (1993). The use of antigen-detection ELISA for the diagnosis of trypanosome infections in N'Dama cattle in Gambia. In: Improving the diagnosis and control of trypanosomiasis and other vector-borne diseases of African livestock using immunoassay methods; *IAEA-TECDOC 707, June 1993*; 51-57.
153. FERENC, S. A., RAYMOND, H. L. et LANCELOT, R. (1988 a). Essai de transmission mécanique de *Trypanosoma vivax* (Ziemann) (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) par le taon néotropical *Cryptotylus unicolor* (Wiedemann) (Diptera, Tabanidae). In : Proc. XVIII Cong. int. Entomol., Vancouver (3-9 juillet 1988), 295.
154. FERENC, S. A., RAYMOND, H. L., LANCELOT, R., and COURTNEY, C. H. (1988 b). Mechanical transmission of South American *Trypanosoma vivax* by the tabanid *Cryptotylus unicolor*. Gainesville, Université de Floride, 16 p.
155. FERENC, S. A., STOPINSKI, V., and COURTNEY, C. H. (1990). The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* and its use in a seroepidemiological survey in the eastern caribbean basin. *Int. J. Parasitol.* **20**, 51-56.
156. FERNANDEZ, A. J. (1931). Trypanosomiasis de los bovinos de Venezuela. *Gaceta medica de Caracas* **2**, 17-21.
157. FERRIS, D. H. (1984). Bovine trypanosomiasis (*T. vivax*) in Central and South America. *Trop. Vet. Med. News* **2**, 1-37.
158. FIASSEON, R., MAYER, M. et PIFANO, F. (1948). Le cariacou (*Odocoileus gymnotis*) porteur de *Trypanosoma vivax* au Venezuela. *Bull. Soc. Path. Ex.* **41**, 206-208.
159. FIENNES, R. N. T.-W. (1950). The cattle trypanosomiasis: some considerations of pathology and immunity. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **44**, 42-54.
160. FINELLE, P. (1973). Chimiothérapie et chimioprévention de la trypanosomiase animale. Acquisition récentes et situation actuelle. *Cah. méd. vét.* **42**, 215-226.
161. FLOCH H. et FAURAN P. (1955). Les Tabanidés de la Guyane Française. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini* **384**, 1-4.
162. FLOCH, H. (1943). Trypanosomes des bovidés en Guyane française. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane française* **59**, 1-5.
163. FLOCH, H. (1954). Sur la pathologie vétérinaire en Guyane française. Les affections des bovidés (I): Généralités. Trypanosomiasis. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane française* **329**, 1-8.
164. FLOCH, H. et LAJUDIE, P. (de) (1944). Sur la transmission naturelle du *Trypanosoma vivax* Lavie 1921. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane* **79**, 1-5.
165. FOIL, L. D. (1989). Tabanids as Vectors of Disease Agents. *Parasitology today* **5**, 88-96.
166. FOIL, L. D. and FOIL, C. (1988). Dipteran parasites of horses. *Equine practice* **10**, 21-38.
167. FOIL, L. D. and FOIL, C. (1992). Control of ectoparasites. In: Current Therapy in Equine Medicine, Ed. N. E. Robinson, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 688-692.
168. FOIL, L.D. and HOGSETTE, J.A. (1994). Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **13**, 1125-1158.
169. FOIL, L. D. and ISSEL, J. C. (1991). Transmission of retroviruses by arthropods. *Ann. Rev. Entomol.* **36**, 355-381.
170. FOIL, L.D., ADAMS, W.V., McMANUS, J.M. and ISSEL, C.J. (1988). Quantifying the role of Horse flies as vectors of Equine Infectious Anemia. In: Equine infectious diseases ; Proc. of the fifth Int. Conf.; Ed. D.G. POWELL; University Press of Kentucky 189-195.
171. FOIL, L.D., ADAMS, W.V., McMANUS, J.M., and ISSEL, C.J. (1987). Bloodmeal Residues on Mouthpart of *Tabanus fuscicostatus* and the potential for mechanical transmission of pathogens. *J. Med. Entomol.* **24**, 613-616.
172. FOIL, L.D., LEPRINCE, D.J., ADAMS, W.V., BYFORD, R.L., CHURCH, G.E., ISSEL, C.J., SONNIER, K.J. and ZYZAK, M.D. (1990). Controlling the impact of horse flies upon livestock. *Louisiana Agriculture* **34**, 16-18.



- 173.FRAME, J. A., RAE, P. F., BOLD, R. and LUCKINS, A. G. (1990). Antigen detection ELISA for *Trypanosoma evansi* using group-specific monoclonal antibody. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hygiene* **84**, 893.
- 174.FRANKE, C. R., GREINER, M., and MEHLITZ, D. (1994). Investigations on naturally occurring *Trypanosoma evansi* infections in horses, cattle, dogs and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Pantanal de Pocone (Mato Grosso, Brazil). *Acta trop.* **58**, 159-169.
- 175.FRENAY, D. (1980). Les Tabanidés de Guyane Française; méthodes de lutte, intérêt du piégeage. Thèse Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 70 p.
- 176.FREZIL, J. L. (1994). Trypanosomes et trypanosomoses africaines. Généralités. *Note interne O.R.S.T.O.M.* 1-47 (non publié).
- 177.FREZIL, J. L. (1995). De la technique du « quantitative buffy coat » selon les données de la littérature. *Note interne O.R.S.T.O.M.* 1-7 (non publié).
- 178.FUJITA, O., SANABRIA, L., INCHAUSTTI, A., DE ARIAS, A., TOMIZAWA, Y. and OKU, Y. (1994). Animal reservoirs for *Trypanosoma cruzi* infection in an endemic area in Paraguay. *J. Med. Sci.* **56**, 305-308.
- 179.FUSSGÄNGER, R. and BAUER, F. (1960). Investigations on berenil resistance of trypanosomes. *The veterinary record* **72**, 118-112.
- 180.GARCIA, F.A and ASO, P.M. (1992). Parasitological and pathological aspects of *Trypanosoma evansi* infected horses. *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; 198.
- 181.GARCIA-VAZQUEZ, Z., ROSARIO-CRUZ, R. MIRANDA-MIRANDA, E. and DOMINGUEZ-MARQUEZ, A. (1995) A serological survey of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs of two urban areas of Mexico. *Preventive Veterinary Medicine* **25**, 1-6.
- 182.GARDINER, P. R. (1989). Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. *Advances in parasitology* **28**, 229-317.
- 183.GARDINER, P. R. and MAHMOUD, M. M. (1990) Salivarian trypanosomes causing disease in livestock outside Sub-Saharan Africa. In : Parasitic protozoa, J. R. Baker, Academic press, USA; **3**, 1-66.
- 184.GARDINER, P. R. and WILSON, A. J. (1987). *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. *Parasitology today* **3**, 49-52.
- 185.GARDINER, P. R., PEARSON, T. W., CLARKE, M. W., and MUTHARIA, L. M. (1987). Identification and isolation of a variant surface glycoprotein from *Trypanosoma vivax*. *Science* **235**, 774-777.
- 186.GATHUO, H. K. W., NANTULYA, V. M., and GARDINER, P. R. (1987). *Trypanosoma vivax*: adaptation of two East African stocks to laboratory rodents. *J. Protozoology* **34**, 48-53.
- 187.GIACOTTINO, JC. (1984). Les Guyanes (Guyana, Suriname, Guyane Française). « Que sais-je », Presse Universitaires de France, 128 p.
- 188.GIBSON, W. C. (1989). Analysis of a genetic cross between *Trypanosoma brucei rhodesiense* and *T. b. brucei*. *Parasitology*, **99**, 391-402.
- 189.GIBSON, W. (1995). The significance of genetic exchanges in trypanosomes. *Parasitology Today*, **11**, 465-468.
- 190.GIBSON, W. C., DE C. MARSHALL, T. F., and GODFREY, D. G. (1980). Numerical analysis of enzyme polymorphism: a new approach to the epidemiology and taxonomy of trypanosomes of the subgenus *Trypanozoon*. *Advances in parasitology* **18**, 175-246.
- 191.GIBSON, W. C., DUKES, P., and GASHUMBA, J. K. (1988). Species-specific DNA probes for the identification of African trypanosomes in tsetse flies. *Parasitology* **97**, 63-73.
- 192.GILL, B. S. (1964). A procedure for the indirect hemagglutination test for the study of experimental *Trypanosoma evansi* infections. *Ann. trop. Med. Parasit.* **58**, 473-476.
- 193.GONZALEZ, N. and ESPINOZA, E. (1992). Experimental infection with *T. vivax* in Holstein cebu cows, during the last trimester of gestation and the post partum period. *Premier séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16octobre; p. 208.
- 194.GONZALEZ, B., MOTA, M., ESPINOZA, E., ROSSI, M., FERNANDEZ, A., CONTRERAS-DE-BRETANA, M. y BRETANA, A. (1995). Infeccion experimental de una cabra con un aislado venezolano de *Trypanosoma evansi*. *Acta Científica Venezolana* **46**, 1.
- 195.GRAB, D. J. and BWAYO, J. J. (1982). Isopycnic isolation of African trypanosomes on Percoll gradients formed *in situ*. *Acta trop.* **39**, 363-366.
- 196.GRABER, M. (1968). Note sur la résistance au Bérénil d'une souche tchadienne de *Trypanosoma vivax*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **21**, 463-466.
- 197.GRAY, A. R. and LUCKINS, A. G. (1977). Development of enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of trypanosomal infections in animals. *Int. Sci. Trypanosomiasis Res.*, **110**, 241-246.
- 198.GREIG, W. A., MURRAY, M., MURRAY, P. K., and McINTYRE, W. I. M. (1979). Factors affecting blood sampling for anaemia and parasitaemia in bovine trypanosomiasis. *Br. Vet. J.* **135**, 130-140.
- 199.GREINER, M., FRANKE, C. R., BÖHNING, D., and SCHLATTMANN, P. (1994). Construction of an intrinsic cut-off value for the sero-epidemiological study of *Trypanosoma evansi* infections in a canine population in Brazil: a new approach towards an unbiased estimation of prevalence. *Acta trop.* **56**, 97-109.
- 200.GROOTENHUIS, J. G. (1986). Trypanotolerance in wildlife. *The kenya veterinarian* **10**, 45-46.
- 201.GUMM, I. (1991). The axenic cultivation of insect forms of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* and development to the infective metacyclic stage. *J. Protozoology* **38**, 163-171.
- 202.HARVEY, T. L. and BRETHOUR, J. R. (1979). Effect of horn flies on weight gains of beef cattle. *J. Econ. Entomol.*, **72**, 516-518.
- 203.HIDIROGLOU, M. et PREVOST, P. (1959). Essais de lutte contre les Tabanidés en Guyane Française. *Rec. Méd. vét.* **135**, 635-650.



204. HIGUCHI, R. (1989). PCR technology. In: Principles and applications for DNA amplification. Ed. H. A. ERLICH, Stockton Press, Stockton, U.K., 31-37.
205. HIRUMI, H. and HIRUMI, K. (1989). Continuous cultivation of *Trypanosoma brucei* blood stream forms in a medium containing a low concentration of serum protein without feeder cell layers. *J. Parasitol.* **75**, 985-989.
206. HIRUMI, H. and HIRUMI, K. (1991). Present status of the *in vitro* cultivation of *Trypanosoma vivax*. In: Proceedings of the 8<sup>th</sup> Japan-Germany Cooperative Symposium on Protozoan Diseases, Berlin, September 9-14; 1-4.
207. HOARE, C.A. (1965). Vampires bats as vectors and hosts of equine and bovine trypanosomes. *Acta Trop.* **22**, 204-209.
208. HOARE, C.A. (1967). Evolutionary trends in mammalian trypanosomes. *Advances in Parasitology* **5**, 47.
209. HOARE, C.A. (1972). The trypanosomes of mammals. A Zoological Monograph. Blackwell Scientific Publications, Oxford, U.K., 749 p.
210. HOFT, D. H., FARRAR, P. L., KRATZ-OWENS, K. and SHAFFER, D. (1996). Gastric invasion by *Trypanosoma cruzi* and induction of protective mucosal immune responses. *Infection and immunity* **64**, 3800-3810.
211. HOLLANDER, A. L. and WRIGHT, R. E. (1980). Impact of Tabanids on cattle: blood-meal size and preferred feeding sites. *J. Econ. Entomol.* **73**, 431-433.
212. HULL, R. M. (1971). Laboratory studies of a South American strain of *Trypanosoma vivax*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **65**, 258.
213. JAGBONE, I. F., STAACK, C. and REINHARD, R. (1989). Fractionation of trypanosome antigens for species-specific sero-diagnosis. *Vet. Parasitol.* **32**, 293-299.
214. ISOUN, T. T. and ISOUN, M. J. (1974). *In vitro* cultivation of *Trypanosoma vivax* isolated from cattle. *Nature* **251**, 513-514.
215. JACQUIET, P., CHEILH, D., THIAM, A. et DIA, M.L. (1993). La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* (Steel 1885), Balbiani 1888, chez les ruminants de Mauritanie: Résultats d'inoculations expérimentales et d'enquêtes sur le terrain. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.* **46**, 574-578.
216. JOHNSON, C. M. (1941). Bovine trypanosomiasis in Panama. *Ann. J. Med.* **21**, 289-297.
217. JOHNSTON, L. A. Y., KEMP, D. H. & PEARSON, R. D. (1986). Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: effects of induced immunity on tick populations. *Int. J. for Parasitology*, **16**, 27-34.
218. JONES-DAVIES, W. J. (1967). The discovery of berenil-resistant *Trypanosoma vivax* in Northern Nigeria. *The veterinary record* **80**, 531-532.
219. JONES-DAVIES, W. J. (1968). Berenil resistance in naturally occurring *Trypanosoma congolense*. *Bull. epizoot. Dis. Afr.* **16**, 213-216.
220. KAGERUKA, P. and MORTELMANS, J. (1971). Isolement de *Trypanosoma evansi* Steel 1885 d'un cabiai (*Hydrochoerus hydrochoeris* Lin.) importé en Belgique et étude préliminaire de sa virulence. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.* **51**, 709-716.
221. KALU, A. U. (1996). Acute trypanosomosis in a sedentary herd on the tsetse-free Jos Plateau, Nigeria. *British Vet. J.* **152**, 477-479.
222. KALU, A. U., EDEGHERE, H. U., and LAWANI, F. A. (1986). Comparison of diagnostic techniques during subclinical single infections of trypanosomiasis in goats. *Vet. Parasitol.* **22**, 37-47.
223. KAMINSKY, R. (1990). *In vitro* techniques for assessment of drug resistance in trypanosomes. *AgBiotech News and Information* **2**, 205-210.
224. KAMINSKY, R., CHUMA, F., and ZWEYGARTH, E. (1989). *Trypanosoma brucei brucei*: expression of drug resistance *in vitro*. *Exp. parasitol.* **69**, 281-289.
225. KAMINSKY, R., GUMM, I. D., ZWEYGARTH, E., and CHUMA, F. (1990). A drug incubation infectivity test (DIIT) for assessing resistance in Trypanosomes. *Vet. Parasitol.* **34**, 335-343.
226. KANGWAGYE, T. N. (1974). The seasonal incidence of biting flies (*Diptera*) in Rwenzori National Park and Kigrzi Game Reserve, Uganda. *Bull. ent. Res.* **63**, 535-549.
227. KANWE, A. B., BENGALY, Z., SAULNIER, D. et DUVALLET, G. (1992). Évaluation du test de détection des antigènes circulants de trypanosomes à l'aide d'anticorps monoclonaux. Infections expérimentales et naturelles. *Rev. É. Méd. vét. pays trop.* **45**, 265-271.
228. KASHIWAZAKI, Y., SNOWDEN, K., SMITH, D.H. and HOMMEL, M. (1994). A multiple antigen detection dipstick colloidal dye immunoassay for the field diagnosis of trypanosome infections in cattle. *Vet. Parasitol.* **55**, 57-69.
229. KATENDE, J. M., GODDEERIS, B. M., MORZARIA, S. P., NKONGE, C. G. and MUSOKE, J. M. (1990). Identification of a *Theileria mutans*-specific antigen for use in an antibody and antigen detection ELISA. *Parasite Immunology* **12**, 419-433.
230. KATENDE, J. M., MUSOKE, A. J., NANTULYA, V. M. and GOODERIS, B. M. (1987). A new method for fixation and preservation of trypanosomal antigens for use in the indirect immunofluorescence antibody test for diagnosis of bovins trypanosomiasis. *Trop. Med. Parasitol.* **38**, 41-44.
231. KEMP, D. H., PEARSON, R. D., GOUGH, J. M. & WILLADSEN, P. (1989). Vaccination against *Boophilus microplus*: localization of antigens on tick gut cells and their interaction with the host immune system. *Experimented & Applied Acarology*, **7**, 43-58.
232. KILGOUR, V. and GODFREY, D. G. (1973). Species-characteristic isoenzymes of two aminotransferases in trypanosomes. *Nature* **244**, 69-70.
233. KILGOUR, V. and GODFREY, D. G. (1977). The persistence in the field of two characteristic isoenzyme patterns in Nigerian *Trypanosoma vivax*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **71**, 387-388.
234. KILGOUR, V., GODFREY, D. G., and NA'ISA, B. K. (1975). Isoenzymes of two aminotransferases among *Trypanosoma vivax* in Nigerian cattle. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **69**, 329-335.



- 235.KOOY, R. F. (1991). Cellular differentiation and genetic aspects of the trypanosome life cycle. PhD thesis, Rijksuniversiteit te Utrecht, 115 p.
- 236.KRATZER, R. D. and ONDIEK, F. O. (1989). The buffy coat double centrifugation technique, an improved method for the diagnosis of African trypanosomiasis. In : 20<sup>e</sup> réunion CSIRTC, Mombasa, Kenya, 10-14 avril 1989.
- 237.KRINSKY, W. L. (1976). Animal disease agents transmitted by horse flies and deer flies (*Diptera: Tabanidae*). *J. Med. Ent.* **13**, 225-275.
- 238.KUBES, V. (1944). El *Trypanosoma vivax* Americano. Caracas, Venezuela: Editorial Grafolit. 127 pages.
- 239.KUNZ, S. E. and MONTY, J. (1976). Biology and ecology of *Stomoxys nigra* Macquart and *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera, Muscidae) in Mauritius. *Bull. ent. Res.* **66**, 745-755.
- 240.LA ROCQUE, S. (de) (1994). Contribution à l'étude de l'épidémiologie des trypanosomoses dans les Guyanes. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Lyon, 1994, 62 p.
- 241.LAINSON, R., SHAW, J. J. and NAIFF, R. D. (1980). Chagas' disease in the Amazon Basin: speculations on transmission per os. *Rev. Inst. trop. Sao Paulo* **22**, 294-297.
- 242.LAKES, J. A., CRUZ (de la) V. F., FERREIRA, P. C. G., MOREL, C. and SIMPSON, L. (1988). Evolution of parasitism: Kinetoplastid protozoan history reconstructed from mitochondrial rRNA gene sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **85**, 4779-4783.
- 243.LAMBORN, (1936). The experimental transmission to man of *Treponema pertenue* by the fly *Musca sorbens*, WD. *J. trop. Med. Hyg.*, **39**, 235-239.
- 244.LAMBRECHT, F. L. (1980). Paleoeology of tsetse flies and sleeping sickness in Africa. In: Proceedings of the American Philosophical Society; **124**, 367-385.
- 245.LANCELOT, R. (1988). La trypanosomose bovine à *Trypanosoma vivax* en Guyane française. Contribution à l'étude clinique et épidémiologique. Thèse Doctorat vétérinaire; Maisons-Alfort, France, 116 pages.
- 246.LANHAM, S. M. and GODFREY, D. G. (1970). Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE-cellulose. *Exp. parasitol.* **28**, 521-534.
- 247.LANHAM, M. S., MILES, M. A., SHAW, J. J. & LAINSON, R. (1981). *Trypanosoma vivax* in water buffalo (*Bubalus bubalis*) of the Amazon basin and the diagnosis of subpatent infection by anion exchange separation. *Trans. roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **75**, 471-473.
- 248.LATIF, B., KADIM, F. and ALI, S. (1992). The role of stable fly (*Stomoxys calcitrans*) in the transmission of *Trypanosoma evansi*. In: Proc. Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 124.
- 249.LAVIER, G. (1927). On the existence of *Trypanosoma vivax* in man. In « Interim report of the League of Nations Internatioanl Commission on Human Trypanosomiasis », p.144.
- 250.LE GALL, F., BLANC, F., GOUTEUX, J. P., MAINGUET, M., CUISANCE, D., LEMESRE, J. L., NITCHEMAN, S., CAVALEYRA, M., D'AMICO, F., POUNEKROZOU, E. et N'DOKOUE, F., N. (1995). La lutte par piégeage contre *Glossina fuscipes fuscipes* pour la protection de l'élevage en République centrafricaine. IV. Impact entomologique, parasitologique et zootechnique. *Revue El. Med. vet. Pays trop.* **48**, 161-169.
- 251.LEACH, T. M. and ROBERTS, C. J. (1981). Present status of chemotherapy and chemoprophylaxis of animal trypanosomiasis in the eastern hemisphere. *Pharmacology and Therapeutics* **13**, 91-147.
- 252.LEEFLANG, P. (1975). The predominance of *Trypanosoma vivax* infections of cattle at a distance from savannah tsetse concentration. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **7**, 201-204.
- 253.LEEFLANG, P., BUYS, J., and BLOTKAMP, C. (1976). Studies on *Trypanosoma vivax*: infectivity and serial maintenance of natural bovine isolates in mice. *Int. J. Parasitol.* **6**, 413-417.
- 254.LEEFLANG, P., BUYS, J., and BLOTKAMP, C. (1978). Studies on *Trypanosoma vivax*: comparison of parasitological diagnostic methods. *Int. J. Parasitol.* **8**, 15-18.
- 255.LEGER, L. (1904). Les affinités de l'*Herpetomonas subulata* et la phylogénie des trypanosomes. *C. r. Séances Biol.* **57**, 615-617.
- 256.LEGER, M. et VIENNE, M. (1919). Epizootie à trypanosomes chez les Bovidés de la Guyane Française. *Bull. Soc. Path. Exot.* **12**, 258-266.
- 257.LEVINE, R. A., WARDLAW, S. C., and PATTON, C. L. (1989). Detection of haematoparasites using quantitative buffy coat analysis tubes. *Parasitology today* **5**, 132-133.
- 258.LIHNART, S. B., CRESPO, A. R. and MITCHELL, G. C. (1972). Control of vampire bats by topical application of an anticoagulant chloro-phacinone. *Bul. Officina Sanitaria Panamericana* **6**, 31-38.
- 259.LIU, J.H. and OU, Y.C. (1992). Trypanosomiasis in China (1980-1991). In: Proc. Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 160.
- 260.LOGAN, L.L., GOODWIN, J. T., TEMBELY, S. and CRAIG, T. M. (1984). Maintaining zebu Maure cattle in a tsetse infested are of Mali. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, **16**, 1-12.
- 261.LOPEZ, G., THOMPSON, K. C. y BALAZAR, H. (1979). Transmission experimental de *Trypanosomoa vivax* por la garrapata *Boophilus microplus*. *Revta. Inst. Colomb. Agrop.* **14**, 93-96.
- 262.LOSOS, G. J. (1980). Diseases caused by *Trypanosoma evansi*: a review. *Vet. Res. Com.* **4**, 165-181.
- 263.LOSOS, G. J. (1986). Infectious tropical diseases of domestic animals. Longman Scientific and technical Ed.; Essex, England, 938 p.
- 264.LUCKINS, A., G. (1977). Detection of antibodies in trypanosome-infected cattle by means of a microplate enzyme-linked immunosorbent assay. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **9**, 53-62.
- 265.LUCKINS, A. G. (1988). *Trypanosoma evansi* in Asia. *Parasitology Today* **4**, 137-142.
- 266.LUCKINS, A. G. (1992). *Trypanosoma evansi* and *T. equiperdum*: an overview. In: Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 18.



267. LUCKINS, A. G. (1993). Diagnostic methods in trypanosomiasis of livestock. *In: Improving the diagnosis and control of trypanosomiasis and other vector-borne diseases of African livestock using immunoassay methods; IAEA-TECDOC 707, June 1993; 27-35.*
268. LUCKINS, A. G. and MELHLITZ, D. (1978). Evaluation of an indirect fluorescent antibody test, enzyme-linked immunosorbent assay and quantification of immunoglobulins in the diagnosis of bovine trypanosomiasis. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **10**, 149-159.
269. LUCKINS, A. G., GRAY, A. R. and RAE, P. F. (1978). Comparison of the diagnostic value of serum immunoglobulin levels, an enzyme-linked immunosorbent assay and a fluorescent antibody test in experimental infections with *Trypanosoma evansi* in rabbits. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **72**, 429-441.
270. LUCKINS, A. G., McINTYRE, N., and RAE, P. F. (1991). Multiplication of *Trypanosoma evansi* at the site of infection in skin of rabbits and cattle. *Acta trop.* **54**, 19-27.
271. LUMDSEN, W. H. R., KIMBER, C. D., DUKES, P., HALLER, L., STANGHELLINI, A. and DUVALLET, G. (1981). Field diagnosis of sleeping sickness in Ivory Coast. 1. Comparison of the miniature anion-exchange centrifugation technique with other protozoological methods. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **75**, 242-250.
272. LUN, Z.-R., BRUN, R. & GIBSON, W. (1992). Kinetoplast DNA and molecular karyotypes of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equipedum* from China. *Mol. Biochem. Parasitol.* **50**, 189-196.
273. LUONG TÔ THU, DOAN VAN PHUC, LE NGOC MY, HOANG VAN XÔNG & PHAM SY LANG (1992). Caractéristiques épidémiologiques de l'infection de *Trypanosoma evansi* chez les buffles au Viêt-Nam et évaluation des méthodes immuno-sérologiques pour détecter des anticorps anti-*T. evansi*. *In: Premier séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines; Annecy, France, 14-16 octobre; 60.*
274. MACGREGOR, J. T. and JOHNSON, I. J. (1977). In vitro metabolic activation of ethidium bromide and other phenanthridium compounds: mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*. *Mutat Research*, **48**, 103-108.
275. MACLENNAN, K. J. R. (1957). A staining technique for the identification of trypanosomes in thick blood films. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. H.*, **51**, 301-302.
276. MACLENNAN, K. J. R. and JONES-DAVIES, W. J. (1967). The occurrence of berenil-resistant *Trypanosoma congolense* strain in northern Nigeria. *The veterinary record* **80**, 389-390.
277. MACLENNAN, K. J. R. and NA'ISA, B. K. (1970). Relapsing *Trypanosoma vivax* infections in Nigerian zebu cattle treated with diminazine aceturate. *Trop. Anim. Hlth Prod.* **2**, 189-195.
278. MAGNUS, E., VERVOORT, T., and VAN MEIRVENNE, N. (1982). Serological cross-reactions among trypanosome variable antigen isotypes of subgenus *Trypanozoon*. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.* **62**, 25-39.
279. MAJIWA, P.A.O., THATTHI, R., MOLOO, S.K., NYEKO, J.P.H., OTIENO, L.H. and MALOO, S. (1994). Detection of trypanosome infections in the saliva of tsetse flies and buffy coat samples from antigenaemic but aparasitaemic cattle. *Parasitology* **108**, 1-10.
280. MANCEBO, O. A. and MONZON, C. M. (1986). Accion del diminazene en ratones y equinos experimentalmente infectados con *Trypanosoma equinum*. *Veterin. Argentina* **3**, 844-849.
281. MANN, C. S. (1984). Le vampire en Guyane; Point sur les études en cours. *In: Prairies guyanaises et élevage bovin (Cayenne, 15-16 décembre 1981). Colloque INRA n° 24, INRA publications, Versailles, 350p., 330-340.*
282. MANZ, P. (1985). Studies on the transmission of *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885) via local tabanids (*Diptera, Tabanidae*) and South American reduviids (*Hemiptera, Reduviidae*). Thesis, Ludwig-Maximilians-Universidtt, Munich, German Federal Republic, 121 pages (Résumé en Anglais).
283. MARTIN, S. W., MEEK, A. H. and WILLEBERG, P. (1987). Veterinary epidemiology; principles and methods. Iowa State University Press; Ames, Iowa; 343 p.
284. MARAGHI, S., WALLBANKS, K. R. and MOLYNEUX, D. H. (1995). Oral transmission of the subgenus *Herpetosoma* from small mammals. *Parasitol. Res.* **81**, 693-695.
285. MASAKE, R. A. (1980). The pathogenesis of infection with *Trypanosoma vivax* in goats and cattle. *Vet. Record.* **107**, 551-557.
286. MASAKE, R. A., NYAMBATI, V. M., NANTULYA, V. N., MAJIWA, P. A. O., MOLOO, S. K. and MUSOKE, A. J. (1988). The chromosome profiles of *Trypanosoma congolense* isolates from Kilifi, Kenya and their relationship to serodeme identity. *Mol. Bioch. Para.* **30**, 105-112.
287. MASIGA, D. K. and GIBSON, W. (1990). Specific probes for *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* based on kinetoplast DNA minicircles. *Mol. Biochem. Parasitol.* **40**, 279-284.
288. MASIGA, D. K., SMYTH, A. J., HAYES, P., BROMIDGE, T. J. and GIBSON, W. C. (1992). Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *Int. J. Parasitol.* **22**, 909-918.
289. MASLOV, D. A., LUKES, J., JIRKU, M. and SIMPSON, L. (1996). Phylogeny of trypanosomes as inferred from the small and large subunit rRNAs: implications for the evolution of parasitism in the trypanosomatid protozoa. *Mol. and biochem. parasitol.* **75**, 197-205.
290. MASON, C. A. and NORVAL, R. A. I. (1981). The transfert of *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae) from infested to uninfested cattle under field conditions. *Vet. Parasito.* **8**, 185-188.
291. MASSARD, C. (de A.) (1984). *Ehrlichia bovis* (Donatien & Lestoquard, 1936). Diagnostico, cultivo *in vitro* e aspectos epidemiologicos em bovinos no Brasil. *Summary of Ph. D. thesis*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brazil.
292. MASSARD, C. (de) A. e MASSARD, C. L. (1982). *Ehrlichia bovis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) em gado de Leite no Brasil. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.* **5**, 237-239.
293. MATEUS, G. and GONZALEZ, M. (1991). Caracteristicas de un brote de *Trypanosoma vivax* en Colombia. *Rvta. Club. Cienc. Vet.* **22**, 167-172.



294. MATEUS, G., GARCIA, O. and LEON, J. (1992). Use of trypanidium in an integrated control method of *Trypanosoma vivax* in Colombia. In: *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 90.
295. MBWAMBU, H. A., MELLA, P. N. P., and LEKAKI, K. A. (1988). Berenil (diminazene aceturate)-resistant *Trypanosoma congolense* in cattle under natural tsetse challenge at Kibaha, Tanzania. *Acta trop.* **45**, 239-244.
296. McCANN, J., CHOI, E., YAMASAKI, E. & AMES, B. N. (1975). Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella* / microsome test : assay of 300 chemicals. In : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **72**, 5135-5139.
297. McNAMARA, J. J., BAILEY, J. W., SMITH, D. H., WAKHOOLI, S. and GODFREY, D. G. (1995). Isolation of *Trypanosoma brucei gambiense* from northern Uganda: evaluation of the *in vitro* isolation (KIVI) in an epidemic focus. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **89**, 388-389.
298. MDACHI, R. E., MURILLA, G. A., OMUKUBA, J. N. & CAGNOLATI, V. (1995). Disposition of diminazene aceturate (Berenil®) in trypanosome-infected pregnant and lacting cows. *Vet. Parasitol.*, **58**, 215-225.
299. MELENDEZ, R. D., FORLANO, M., and FIGUEROA, W. (1993). Perinatal infection with *Trypanosoma vivax* in a calf in Venezuela. *J. Parasitol.* **79**, 293-294.
300. MÉROT, P., POLITZAR, H., TAMBOURA, I. et CUISANCE, D. (1986). Résultats d'une campagne de lutte contre les glossines riveraines au Burkina par l'emploi d'écrans imprégnés de deltaméthrine. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.* **39**, 175-184.
301. MESNIL, F., PÉRARD, C. et PROVOST, A. (1938). Recherches expérimentales sur un trypanosome des ruminants de la Martinique. *Bull. Soc. Path. Exot.* **31**, 377-381.
302. MIHOK, S., MARAMBA, O., MUNYOKI, E. and KAGOIYA, J. (1995). Mechanical transmission of *Trypanosoma* spp. by African Stomoxynae (Diptera: Muscidae). *Trop. Med. Parasitol.* **46**, 103-105.
303. MOLOO, S. K. (1982). Studies on transmission of two east african stocks of *Trypanosoma vivax* to cattle, goats, rabbits, rats and mice. *Acta trop.* **39**, 51-59.
304. MOLOO, S. K., LOSOS, G. J. and KUTUZA, S. B. (1973). Transmission of *Trypanosoma brucei* to cat and dogs by feeding on infected goats. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **67**, 287.
305. MONTENEGRO-JAMES, S., GUILLEN, T. y TORO, M. (1992). Dot-ELISA para el diagnostico serologico de la anaplasmosis y babesiosis bovina. *Revista Científica FCV de Luz*, **11**, 23-29.
306. MONZON, C. M. (1987). Inmunodiagnostico de la tripanosomiasis equina o mal de caderas, mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta. *Rev. Med. Vet.* **68**, 196-204.
307. MONZON, C. M. y COLMAN, O.L.R. (1988). Estudio seroepidemiológico de la tripanosomiasis equina (O Mal de Caderas) mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta en la Provincia de Formosa (Argentina). Anos 1983 a 1987. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* **40**, 279-285.
308. MONZON, C. M., MANCEBO, O. A., and ROUX, J. P. (1990). Comparison between six parasitological methods for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in the subtropical area of Argentina. *Vet. Parasitol.* **36**, 141-146.
309. MONZON, C. M., HOYOS, C. B. y JARA, G. A. (1995 a). Brotes de tripanosomosis equina causada por *Trypanosoma evansi* en Formosa, Argentina. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **14**, 747-752.
310. MONZON, C. M., JARA, G. A. and HOYOS, C. B. (1995 b). Determinacion de la supervivencia de *Trypanosoma evansi* en sangre de equinos, empleando el metodo del microhematocrito. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **14**, 753-759.
311. MONZON, C. M., JARA, A. and NANTULYA, V. M. (1995 c). Sensitivity of antigen ELISA Test for detecting *Trypanosoma evansi* antigen in horses in the subtropical area of Argentina. *J. Parasitol.* **81**, 806-808.
312. MONZON, C. M., MANCEBO, O. A., JARA, G. A. y HOYOS, C. B. (1993). *Trypanosoma theileri* (Laveran, 1902) en bovinos de la provincia de Formosa: aislamiento, cultivo y alteraciones hemáticas. *Vet. Arg.* **10**, 236-241.
313. MORALES, G. A. and CARRENO, F. (1976). The Proechymis rat; a potential laboratory host and model for the study of *Trypanosoma evansi*. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **8**, 122-124.
314. MOREL, P. C. (1967). Étude sur les tiques du bétail en Guadeloupe et Martinique. II. Agents pathogènes transmis par les tiques. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **20**, 291-299.
315. MOSER, D. R., COOK, G. A., OCHS, D. E., BAILEY, C. P., McKANE, M. R., and DONELSON, J. E. (1989 a). Detection of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma brucei* subspecies by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *Parasitology* **99**, 57-66.
316. MOSER, D. R., KIRCHHOFF, L.V. and DONELSON, J.E. (1989 b). Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA Amplification Using the Polymerase Chain Reaction. *J. Clin. Microbiology* **27**, 1477-1482.
317. MULATU, W., ROWLAND, G. J., d'ETEREN, G. D.M., LEAK, S. G. A. and NAGDA, S. M. (1995). Productivity of cattle treated with a cypermethrin « pour on » insecticide to control tsetse in South West Ethiopia. In: 23<sup>rd</sup> meeting of the International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control (ISCTRC), Banjul, The Gambia, September 11-15, 1995; p. 47.
318. MULLENS, B. A. and GERHARDT, R. R. (1979). Feeding behavior of some Tennessee Tabanidae. *Environ. Entomol.* **8**, 1047-1051.
319. MURILLA, G., MDACHI, R. E. & KARANJA, W. M. (1993). Disposition of <sup>14</sup>C homidium chloride in cattle. In: 22<sup>nd</sup> meeting of the International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control (ISCTRC), October 25-29, 1993, p. 5.23.
320. MURRAY, A. K. (1982). Characterization of stocks of *Trypanosoma vivax*. I. Isoenzyme studies. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **76**, 275-282.
321. MURRAY, A. K. and CLARKSON, M. J. (1982). Characterization of stocks of *Trypanosoma vivax*. II. Immunological studies. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **76**, 283-292.
322. MURRAY, M., MURRAY, P. K. and McINTYRE, W. I.M. (1977). An improved parasitological technique for the diagnosis of african trypanosomiasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **71**, 325-326.



323. MURRAY, M., CLIFFORD, D. J., and McINTYRE, W. I. M. (1979). Diagnosis of african trypanosomiasis in the bovine. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **73**, 120-121.
324. MUTERO, C. M. and MUTTINGA, M. J. (1993). Defecation by *Anopheles arabiensis* mosquitoes of host blood infected with live *Trypanosoma congolense*. *Trop. Med. Parasitol.* **44**, 23-26.
325. MWANBU, P. M. and MAYENDE, J. S. P. (1971). Berenil resistant *Trypanosoma vivax* isolated from naturally infected cattle in Teso District, eastern Uganda. In: 13<sup>th</sup> meeting of international scientific council for trypanosomiasis research and control, ISCTR, OAU/STRC, Lagos; **105**, 133-138.
326. NA'ISA, B. K. (1967). Follow-up of a survey on the prevalence of homidium-resistant strains of trypanosomes in cattle in northern Nigeria and drug cross-resistance tests on the strains with samorin and berenil. *Bull. epizoot. Dis. Afr.* **15**, 231-241.
327. NANTULYA, V. M. (1990). Trypanosomiasis in domestic animals: the problems of diagnosis. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **9**, 357-367.
328. NANTULYA, V. M. (1994). Suratex: a simple latex agglutination antigen test for diagnosis of *Trypanosoma evansi* infections (Surra). *Trop. Med. Parasitol.* **45**, 9-12.
329. NANTULYA, V. M. and LINDQVIST, K. J. (1989). Antigen-detection enzyme immunoassays for diagnosis of *Trypanosoma vivax*, *T. congolense* and *T. brucei* infections in cattle. *Trop. Med. Parasitol.* **40**, 267-272.
330. NANTULYA, V. M., MUSOKE, A., RURANGIRWA, F. R., SAIGAR, N., and MINJA, S. H. (1987). Monoclonal antibodies that distinguish *Trypanosoma congolense*, *T. vivax* and *T. brucei*. *Parasite immunology* **9**, 421-431.
331. NANTULYA, V. M., BAJYANA-SONGA, E. and HAMERS, R. (1989). Detection of circulating trypanosomal antigens in *Trypanosoma evansi*-infected animals using a *T. brucei* group-specific monoclonal antibody. *Trop. Med. Parasitol.* **40**, 263-266.
332. NANTULYA, V. M., LINDQVIST, K. J., STEVENSON, P., and MWANGI, E. K. (1992). Application of a monoclonal antibody based antigen detection enzyme-linked immunosorbent assay (antigen ELISA) for field diagnosis of bovine trypanosomiasis at Nguruman, Kenya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **86**, 225-230.
333. NATHAN, H. C., SOTO, K. V. M., MOREIRA, R., CHUNOSOFF, L., HUTNER, S. H., and BACCHI, C. J. (1979). Curative effects of the antiprotozoals amicarbalide and imidocarb on *Trypanosoma brucei* infection in mice. *J. Protozoology* **26**, 657-660.
334. NAWATHE, D. R., SINHA, P. K., and ABECHI, A. S. (1988). Acute bovine trypanosomiasis in a tsetse-free zone of Nigeria. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **20**, 141-142.
335. NESSIEM, M. G. (1994). Evaluation of the silicone centrifugation technique in the detection of *Trypanosoma evansi* infection in camels and experimental animals. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **26**, 227-229.
336. NJAU, B. C., MKONYI, P. M., and KUNDY, D. J. (1981). Berenil resistant *Trypanosoma congolense* isolated from naturally infected goats in Tanga region, Tanzania. In: 17<sup>th</sup> meeting of international scientific council for trypanosomiasis research and control, ISCTR; 289-298.
337. NOIRTIN, C., BOITEUX, P., GUILLET, P., DEJOUX, C., BEAUCOURNU-SAGUEZ et MOUCHET, J. (1981). Les simules, nuisance pour le bétail dans les vosges: les origines de leur pullulation et les méthodes de lutte. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. Méd. et Parasitol.* **19**, 101-112.
338. NUNES, V. L. B. and OSHIRO, E. T. (1990). *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* in the coati from Pantanal region of Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **84**, 692.
339. NUNES, V. L. B. and OSHIRO, E. T., DORVAL, M. A., ESPINDOLA, M.A., CRISTALDO, G., ROCHA, H. C. (da), NUNES, A. B., PIRES, R. C. (da) e GARCIA, W. B. (1994). Estudos epidemiológicos sobre leishmaniose tegumentar (LT) e mal de caderas no município de Corguinho, Mato Grosso do Sul; estudo de reservatórios, 1992-1994 (1994). *Rev. Bras. Parasitol. vet.* **3**, 29-35.
340. OKECH, G., LUCKINS, A. G., WATSON, E. D. and MAKAWITI, D. W. (1996 a). Suspected *in utero* infection in a Boran heifer experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Br. vet. J.* **152**, 105-107.
341. OKECH, G., WATSON, E. D., LUCKINS, A. G. and MAKAWITI, D. W. (1996 b). The effect of experimental infection of Boran cattle in early and mid-pregnancy with *Trypanosoma vivax*. *British Vet. J.* **152**, 441-451.
342. OKUNA, N. M., MAYENDE, J. S. P. and MAGONA, J. (1993). The validation of an antigen-ELISA for the diagnosis of trypanosomiasis in cattle in Uganda and its use in assessing the efficacy of a control programme. In: Improving the diagnosis and control of trypanosomiasis and other vector-borne diseases of African livestock using immunoassay methods; IAEA-TECDOC 707, June 1993; 69-77.
343. OTESILE, E. B. & TABEL, H. (1987). Enhanced resistance of highly susceptible Balb-c mice to infection with *Trypanosoma congolense* after infection and cure. *J. Parasitol.* **73**, 947-953.
344. OTTE, M. J. (1985). Research needs of Colombia in the light of the activities of the Colombo/german project for the intensification of animal disease control. *Prev. Vet. Med.* **3**, 109-121.
345. OTTE, M. J. (1989). The epidemiology of *Trypanosoma vivax* and its effects on cattle productivity in the Northern tropical zone of Colombia. PhD Thesis, University of Reading, U.K.; 26-39.
346. OTTE, M. J. and ABUABARA, J. Y. (1991). Transmission of South American *Trypanosoma vivax* by the neotropical horsefly *Tabanus nebulosus*. *Acta trop.* **49**, 73-76.
347. OTTE, M. J., ABUABARA, J. Y., and GONZALES, C. A. (1986). Epidemiological and biological observations of *T. vivax* infections in calves on two farms in the Colombian province of Cordoba. In: XV congreso nacional de medicina veterinaria y zootecnica, 1-8.
348. OTTE, M. J., ABUABARA, J. Y. and WELLS, E.A. (1992). *Trypanosoma vivax* in Colombia: epidemiology and production losses. In: *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 26.
349. OTTE, M. J., ABUABARA, J. Y., and WELLS, E. A. (1994). *Trypanosoma vivax* in Colombia: Epidemiology and production losses. *Trop. Anim. Hlth Prod.* **26**, 146-156.



350. OTTE, M. J., ABUABARA, J. Y., NIETO, M. I., and GUTIERREZ, J. R. (1988). Incidence of *Trypanosoma vivax* infection on three cattle farms on the north coast of Colombia. *Acta Veterinaria Scandinavica*, supp. **84**, 104-106.
351. OU, Y. C., GIROUD, C. and BALTZ, T. (1991). Kinetoplast DNA analysis of four *Trypanosoma evansi* strains. *Mol. Biochem. Parasitol.* **46**, 97-102.
352. PAGE W. A. (1972). Feeding behaviour and trypanosomatid infection of some Tabanids and *Culicidae* in Colombia. *J. Ent.* **47**, 1-13.
353. PANYIM S., VISESHAKUL, N., LUXANANIL, P., WUYTS, N. and CHOKESAJJAWATEE, N. (1993). A PCR method for highly sensitive detection of *Trypanosoma evansi* in blood samples. In: Resistance or tolerance of animals to diseases and veterinary epidemiology and diagnostic methods, *Proceedings of Eec contractants workshops*, Rethymno, Grèce, 1992, ed. CIRAD-EMVT; 138-143.
354. PARIS, J., MURRAY, M., and McODIMBA, F. (1982). A comparative evaluation of the parasitological techniques currently available for the diagnosis of African trypanosomiasis in cattle. *Acta trop.* **39**, 307-316.
355. PARR, C. W., BAGSTER, I. A., GODFREY, D. G., KILGOUR, V., and TAYLOR, A. E. R. (1974). Trypanosome taxonomy by electrophoretic characterization of enzymes. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **68**, 174.
356. PATHAK, K. M. L. and KHANNA, N. D. (1995). Trypanosomiasis in camel (*Camelus dromedarius*) with particular reference to Indian sub-continent: a review. *Int. J. Anim. Sci.* **10**, 157-162.
357. PAYNE, R. C., SUKANTO, I. P. and JONES, T. W. (1992 a). *Trypanosoma evansi* infection as a constraint to livestock productivity in Indonesia. In: *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p.164.
358. PAYNE, R. C., SUKANTO, I. P., PARTOUTOMO, S. and POLYTEDI, F. (1992 b). Experimental infection of Friesian Holstein calves with an Indonesian isolate of *Trypanosoma evansi*. *Trop. Med. Parasitol.* **43**, 115-117.
359. PAYNE, R. C., SUKANTO, I. P., BAZELEY, K. and JONES, T. W. (1993). The effect of *Trypanosoma evansi* infection on the oestrous cycle of Friesian Holstein heifers. *Vet. Parasitol.* **51**, 1-11.
360. PENICHER M., RODRIGUEZ M., CASTELLANO O., MANDADO S., ROJAS Y., RUBIERA R., SANCHE G., LLEONART R. & de la FUENTE J. (1994). Detection of Bm86 antigen in different strains of *Boophilus microplus* and effectiveness of immunization with recombinant Bm86. *Parasite Immunology*, **16**, 493-500.
361. PENCHENIER, L., DUMAS, V., GREBAUT, P., REIFENBERG, J.-M. et CUNY, G. (1996). Improvement of blood and fly gut processing for PCR diagnosis of trypanosomosis. *Parasite* **4**, 387-389.
362. PERIE, J., AZEMA, L., BLONSKI, C., CHAUVIERE, G., CLAUSTRE, S., VIODE, C. (1997). Développement de molécules actives contre le trypanosome. Cibles considérées : glycolyse et métabolisme de l'oxygène. In : Réunion de parasitologie MENESR/DGA-DSP : « Cibles thérapeutiques et vaccinales en parasitologie : paludisme, leishmaniose, trypanosomose, schistosomiase » ; 5-6 février 1997, Bordeaux, 1 p.
363. PEREGRINE, A. S. and MAMMAN, M. (1993). Pharmacology of diminazene: a review. *Acta trop.* **54**, 185-203.
364. PEREGRINE, A. S., HOLMES, P. H., EISLER, M. and GAULT, E. (1992 c). Characterization of anti-isometamidium monoclonal antibodies. *ILRAD 1992, annual scientific report*, p. 66.
365. PEREGRINE, A. S., OGUNYEMI, O., BELL, I. R., HOLMES, P. H., MOLOO, S. K., HIRUMI, H., MURRAY, M., URQUHART, G. M., and WHITELAW, D. D. (1986). Isometamidium chloride (Samorin) chemoprophylaxis: a study into factors that may influence the apparent duration of prophylaxis. *The kenyan veterinarian* **10**, 27.
366. PEREGRINE, A., MOLOO, S., HOLMES, P., AROWOLO, R. and KEMI, S. (1992 a). Prophylactic effect of isometamidium chloride (Samorin®) in Boran cattle challenged with drug-resistant and drug-susceptible populations of *Trypanosoma congolense*. In: ILRAD 1992, Annual Technica Report; ILRAD, Nairobi, Kenya; 63-64.
367. PEREGRINE, A., MOLOO, S., McKEEVER, D., MAMMAN, M., GARDINER, P., ALIU, Y. and KEMEI, S. (1992 b). Pharmacokinetics of diminazene in cerebrospinal fluid, plasma and lymph of goats. In: ILRAD 1992, Annual Technica Report; ILRAD, Nairobi, Kenya; 67-68.
368. PEREGRINE, A. S., KEMEI, S. and NDOUTAMIA, G. (1995). Cross-resistance phenotypes associated with induction of resistance to isometamidium chloride and quinapyramine sulfate in *Trypanosoma congolense*. In : 23<sup>rd</sup> meeting of the international scientific council for trypanosomiasis research and control (ISCTRC) ; 11-15 September 1995, Banjul, The Gambia ; p. 50.
369. PEREIRA, J. J. e ABREU, A. C. V. V. (1979). Ocorrência de tripanosomas em bovinos e ovinos na região amazônica. *Pesp. Agropec. Bras.* **13**, 17-21.
370. PERRONE, T., LESSEUR, M. C., REVERON, I., ESPINOZA, E., ASO, P. M. and GIARDINA, S. (1992). Seroepidemiology of bovine trypanosomosis in the area of Santa Maria de Ipire, Venezuela. In: *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 196.
371. PIGNEUR, G. (1932). Sur la transmission héréditaire du *Trypanosoma cazalboui-vivax* chez le bovidé du Ruanda-Urundi. *Ann. Soc. Bel. Méd. trop.* **12**, 544-547.
372. PLATA, R. (1931 a). Nota preliminar sobre una tripanosomiasis del ganado vacuno en Bolívar. *Revta. Méd. vet. Bogota*, **3**, 77-79.
373. PLATA, R. (1931 b). *Trypanosoma* tipo *cazalboui* en el ganado de la costa Atlántica. *Revta. Méd. vet. Bogota* **21**, 141-153.
374. PLATT, K. B. and ADAMS, L. G. (1976). Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for detecting *Trypanosoma vivax* in South American cattle. *Res. Vet. Sci.* **21**, 53-58.
375. QUINONES MATEU, M. E., FINOL, H. J., SUCRE, L. E., and TORRES, S. H. (1994). Muscular changes in Venezuelan wild horses naturally infected with *Trypanosoma evansi*. *J. comp. Path.* **110**, 79-89.
376. QUISENBERRY, S. S. and STROHBEHN, D. R. (1984). Horn fly (*Diptera: Muscidae*) control on beef cows with permethrin-impregnated ear tags and effect on subsequent calf weight gains. *J. econ. Entomol.* **77**, 422-424.



377. RACCURT, C. P. (1996). *Trypanosoma cruzi* en Guyane Française : revue des données accumulées depuis 1940. *Med. Trop.*, **56**, 79-87.
378. RAINA, A. K., RAKESH KUMAR, RAJORA V. S., SRIDHAR and SINGH, R. P. (1985). Oral transmission of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and mice. *Vet. Parasitol.* **18**, 67-69.
379. RAYMOND, H. L. (non daté). Les taons (*Diptera, Tabanidae*). Cours Institut Pasteur (avril 1990). 8 pages (non publié).
380. RAYMOND, H. L. (1982). Insectes nuisibles au bétail et climat. In: Influence du climat sur l'animal au pâturage, Ed. INRA SAD Guyane, Theix, 31 mars-1<sup>er</sup> avril 1982; 169-183.
381. RAYMOND, H. L. (1986). Répartition des principales espèces de taons de la zone côtière de Guyane Française. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. Méd et Parasitol.* **24**, 219-224.
382. RAYMOND, H. L. (1987 a). Action des taons (*Diptera: Tabanidae*) sur le comportement d'un troupeau de zébus au pâturage en Guyane Française. *Ann. Zootech.* **36**, 375-386.
383. RAYMOND, H. L. (1987 b). Intérêt des pièges de Malaise appâtés au gaz carbonique pour l'étude des taons crépusculaires (*Diptera: Tabanidae*) de Guyane Française. *Insect. Sci. appl.* **8**, 337-341.
384. RAYMOND, H. L. (1987 c). Abondance des taons (*Diptera, Tabanidae*) et réactions des bovins dans un élevage traditionnel de Guyane Française. *Acta Oecologia* **8**, 125-134.
385. RAYMOND, H. L. (1987 d). Premier inventaire quantitatif des *Tabanidae* (*Diptera*) du Nord de la Guyane française. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays Trop.* **40**, 71-75.
386. RAYMOND, H. L. (1988). Abondance relative et dynamique saisonnière des *Tabanidae* d'une savane de Guyane Française. *Naturaliste can. (Rev. Ecol. Syst.)* **115**, 251-259.
387. RAYMOND, H. L. (1989 a). Biologie des mouches-lézards, guêpes Bembicides de Guyane Française. *Bull. Soc. Ent. Fr.* **93**, 9-10.
388. RAYMOND, H. L. (1989 b). Distribution temporelle des principales espèces de taons (*Diptera: Tabanidae*) nuisibles au bétail en Guyane Française. *Annls Soc. Ent. Fr. (N.S.)* **25**, 289-294.
389. RAYMOND, H. L. (1989 c). Les mouches-Lézards: des Amies des Animaux familières et méconnues. *Nature Guyanaise* **2**, 34-42.
390. RAYMOND, H. L. (1990). *Tabanus importunus*, vecteur mécanique expérimental de *Trypanosoma vivax* en Guyane française. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* **65**, 44-46.
391. RAYMOND, H. L. et FAVRE J. (1991 a). Essai de lutte contre les taons de Guyane Française: comparaison du RUV 165, du BUTOX 50 et du BUTOX 7,5 pour la protection des bovins et des chevaux. Rapport INRA/Roussel-UCLAF, mars 1991, 17 pages (non publié).
392. RAYMOND, H. L. et FAVRE J. (1991 b). Essai de lutte contre les taons de Guyane Française: efficacité et rémanence du RUV 165 sur l'espèce crépusculaire *Cryptotylus unicolor*. Rapport INRA/Roussel-UCLAF, octobre 1991, 19 pages (non publié).
393. RAYMOND, H. L. et FAVRE J. (1991 c). Essai de lutte contre les taons de Guyane Française: effet d'un traitement de détiage des bovins par aspersion au Butox 50 sur l'abondance des taons. Rapport INRA/Roussel-UCLAF, octobre 1991, 16 pages (non publié).
394. RAYMOND, H. L., BARRE, N., and CAMUS, E. (1987). Données nouvelles sur les taons (*Diptera, Tabanidae*) et les tiques (*Acari, Ixodidae*) de Guyane française. In: Système d'élevage herbager en milieu équatorial (Cayenne, 9-10 décembre 1985). HENTGEN, A., GIRAULT, N. Ed.; 321-334.
395. RAYMOND, H. L., FRENAY D. et ROUSSEAU F. (1984). État d'avancement des recherches sur les Taons de la région côtière de la Guyane Française. In: Prairies guyanaises et élevage bovin (Cayenne, 15-16 décembre 1981). Colloque INRA n° 24, INRA publications, Versailles; 313-330.
396. REITER, I., BUTTNER, M. and SEITZ, A. (1987). *Trypanosoma theileri* Laveran, 1902, in naturally and experimentally infected cattle: parasite isolation, serological and cellular reactions and Berenil® sensitivity. *J. Vet. Med. Ser. B.* **34**, 380-390.
397. REVERON, I., ASO, P. M., HERRERA, E. A., GIARDINA, S., SANSONO, B. and BADARACCO, M. T. (1992). Isolation and serological study of *Trypanosoma evansi* from capybara (*Hydrochoerus hyfrochaeris*). In: *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; Fondation Mérieux; p. 46.
398. REYNA, A., GARCIA, F., ASO, P.M., RIVERA, M. and SANSONO, B. (1992). Enzyme Linked Immunosorbent Assay for serological studies in equine trypanosomiasis. In: *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; Fondation Mérieux; p. 46.
399. REYNES, J.-M., DESQUESNES, M. et GANTEAUME, A. (1996). Immunisation antivectorielle de mammifères. Rapport final d'activité; programme de recherche CORDET 93 DS 04, janvier 1996, 25 p. (non publié).
400. Rhône Mérieux (non daté) Cymelarsan®, Un nouveau trypanocide pour le traitement de la trypanosomose des dromadaires (Surra). Rhône Mérieux, Lyon, 19 p.
401. RIES, R. and CONNOR, R. J. (1993). The use of the antigen ELISA for the monitoring of trypanosomal infections in cattle in Zimbabwe. In: Improving the diagnosis and control of trypanosomiasis and other vector-borne diseases of African livestock using immunoassay methods; *IAEA-TECDOC 707, June 1993*; 101-109.
402. RIOCHE, M. (1967). Lésions microscopiques de la rickettsiose générale bovine à *Rickettsia (Ehrlichia) bovis* (Donatien et Lestoquard, 1936). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* **20**, 415-427.
403. RIOU, G. F., BELNAT, P. and BENARD, J. (1980). Complete loss of kinetoplast DNA sequences induced by ethidium bromide or by acriflavine in *Trypanosoma equiperdum*. *J. Biol. Chem.* **255**, 5141-5144.
404. ROBERTS, R. H. (1972). Relative attractiveness of CO<sub>2</sub> and a steer to *Tabanidae*, *Culicidae* and *Stomoxys calcitrans*. *Mosq. News.* **32**, 208-211.



- 405.ROBERTS, C. J. and GRAY, A. R. (1973). Studies on trypanosome-resistant cattle. II. The effect of trypanosomiasis on N'Dama, Muturu and Zebu cattle. *Trop. Anim. Health Prod.* **5**, 220-233.
- 406.ROBERTS, L. W., WELLDE, B. T., REARDON, M. J. and ONYANGO, F. K. (1989). Mechanical transmission of *Trypanosoma brucei rhodesiense* by *Glossina morsitans morsitans* (Diptera : Glossinidae). *Ann. trop. Med. Parasitol.* **83**, 127-131.
- 407.RODHAIN, F. et PEREZ, C. (1985). Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Eds Maloine, Paris, 458 pages.
- 408.RODRIGUEZ M., PENICHER M., MOURIS A. E., LABARTA V., LORENZO LUACES L., RUBIERA R., CORDOVES C., SANCHEZ G., RAMOS E., SOTO A., CANALES M., PALENZUELA D., TRIGUERO A., LLEONART R., HERRERA L. & de la FUENTE J. (1995). Control of *Boophilus microplus* populations in grazing cattle vaccinated with a recombinant Bm86 antigen preparation. *Vet. Parasitol.*, **57**, 339-349.
- 409.ROEDER, P. L., SCOTT, J. M. and PEGRAM, R. G. (1984). Acute *Trypanosoma vivax* infection of Ethiopian cattle in the apparent absence of tsetse. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, **16**, 141-147.
- 410.ROSS, C. (non daté) Chemotherapy of trypanosomiasis. Documentation Rhône Mérieux, CTVM; 5 pages (Non publié).
- 411.ROSSI, M., ASO, P. y ESPINOZA, E. (1993). Antigenos de *Trypanosoma evansi* y su utilizacion en el inmunodiagnostico de la tripanosomiasis bovina . *Acta Cientifica Venezolana* **44**, 1.
- 412.ROSSI, M., ASO, P. y ESPINOZA, E. (1995). Identificacion de antigenos de *Trypanosoma evansi* reconocidos por sueros de bovinos infectados experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. *Acta Cientifica Venezolana* **46**(1) 1pp.
- 413.RÖTTCHER, D. and SCHILLINGER, D. (1985). Multiple drug resistance in *Trypanosoma vivax* in the Tana River District of Kenya. *Vet. record* **117**, 557-558.
- 414.ROUBAUD, E. et PROVOST, A. (1939). Sensibilité du lapin au trypanosome des ruminants des Antilles *T. viennei*, souche américaine de *T. cazalbovi* (*vivax*). *Bul. soc. path. Exot.* **32**, 553-559.
- 415.ROUBAUD, E., COLAS-BELCOUR, J., et GASCHEN, H. (1938). Le trypanosome des Antilles, *Trypanosoma viennei* a-t-il perdu l'aptitude à évoluer chez les glossines? *Bul. soc. path. Exot.* **31**, 374-377.
- 416.ROUSSEAU, F. (1982). Contribution à l'étude des Tabanidés de la Guyane Française. Protection du bétail par brouillard insecticide. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard-ENVL, Lyon, 124 pages.
- 417.RUIZ-MARTINEZ, C. (1971). Les trypanosomiasis au Venezuela. Progrès obtenus dans la lutte et la prophylaxie de la maladie. *Bull. Off. int. Epiz.* **76**, 275-289.
- 418.SCHLEIN, Y. and LEWIS, C.T. (1976). Lesions in haematophagous flies after feeding on rabbits immunized with fly tissues. *Physiological Entomology* **1**, 55-59.
- 419.SCHWARTZ, D. (1963). Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Éditions médicales Flammarion, Paris, 306 pages; 141-150.
- 420.SERRA FREIRE, N. M. (1984). Reavaliação dos focos de *Trypanosoma vivax* Ziemann 1905 em bovinos e bubalinos do territorio federal do Amapa (TFA). *Rev. Fac. Vet. Univ. fed. Fluminense* **1**, 41-45.
- 421.SERRA FREIRE, N. M., SILVA, A. M., and MUNIZ, J. A. (1981). Prevalencia de *Trypanosoma vivax* em *Bubalus bubalis* no municipio de Belem, estado do Para. *Astas Soc. Biol. Rio de Janeiro* **22**, 35-36.
- 422.SHASTRI, U. V. & DESHPANDE, P. D. (1981). *Hyalomma anatolicum anatolicum* (KOCH, 1844) as a possible vector for transmission of *Trypanosoma theileri*, L AVERAN, 1902, in cattle. *Vet. Parasitol.* **98**, 151-155.
- 423.SHAW, J. and LAINSON, R. (1972). *Trypanosoma vivax* in Brazil. *Ann. Trop. Med. Par.* **66**, 25-32.
- 424.SHEPPARD, D. C. (1994). Dispersal of wild-captured, marked horn flies (Diptera : Muscidae). *Environ. Entomol.* **23**, 29-34.
- 425.SILVA, A. M., AROSEMENA, N. A. E., HERRERA, H. M., SAHIB, C. A., and FERREIRA, M. S. J. (1995 a). Outbreak of trypanosomiasis due to *trypanosoma evansi* in horses of Pantanal Mato-Grossense, Brazil. *Vet. Parasitol.* **60**, 167-171.
- 426.SILVA, A. M., HERRERA, H. M., DOMINGOS, L. B. S., XIMENES, F. A., and DAVILA, A. M. R. (1995 b). Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and horses: hematological and clinical aspects. *Ciencia rural* **25**, 233-238.
- 427.SILVA, A. M., HERRERA, H.M. and BARROS, A. T. M. (1995 c). Trypanosomiasis due to *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil. *Trypnews* **3** (1) 1-2.
- 428.SILVA, R. A. M. S., BARROS, A. T. M. and HERRERA, H. M. (1995 d). Trypanosomiasis outbreaks due to *trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil. A preliminary approach on risk factors. *Rev. El. Méd. Vét. Pays Trop.*, **48**, 315-319.
- 429.SILVA, R.A.M.S., SILVA, J.A. (da), SCHNEIDER, R.C., FREITAS, J. (de), MESQUITA, D.P., MESQUITA, T.C., RAMIREZ, L., DAVILLA, A.M.R. and PEREIRA, M.E.B. (1995 e). Bovine trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in the Northern subregion of Pantanal, Brazil. *Trypnews* **2** (4) 1-2.
- 430.SINGH, V., GAHLOT, A. K. and CHHABRA, M. B. (1994). Evaluation of some sero-diagnostic tests for *Trypanosoma evansi* infection in camel. *J. Camel Practice & Research* **1**, 30-33.
- 431.SINGH, V., CHAUDHARI, S. S., KUMAR, S. and CHHABRA (1995). Polyclonal antibody-based antigen-detection immunoassay for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in buffaloes and horses. *Vet. Parasit.* **56**, 261-267.
- 432.SINGLA, L. D., JUYAL, P. D. and JYOTIKA KAPUR (1996). Dot-enzyme linked immunosorbent assay for detection of *Trypanosoma evansi* antibodies in rabbits. *J. Vet. Parasitology* **10**, 87-89.
- 433.SMITH, C. J., LEVINE, R. A., and MANSFIELD, J. M. (1982). Cloning of african trypanosomes in mice immunosuppressed by cyclophosphamide treatment. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **31**, 1098-1102.
- 434.SOUZA, M. C. (1980). Estudo de infecções experimentais por *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax* Ziemann, 1905 em animais domésticos. Tese de Mestrado; Itaipua, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 110 p.
- 435.STAAK, C. and LOHDING, A. (1979). The complement fixation test and African trypanosomiasis: 1. Experimental infection and re-infection in cattle before and after treatment. *Trop. med. Parasit.* **30**, 13-18.



436. STEELMAN, C. D. (1976). Effect of external and internal arthropod parasites on domestic livestock production. *Ann. Rev. Entomol.*, **15**, 138-139.
437. STEUBER, S., CAILLE, J. Y., and HÖRCHNER, F. (1987). Serodiagnosis of african trypanosomiasis using a chemiluminescent enzyme immunoassay. *Acta trop.* **44**, 459-460.
438. STEVENS, J. R., NUNES, V. L. B., LANHAM, S. M. and OSHIRO, E. T. (1989). Isoenzyme characterization of *Trypanosoma evansi* isolated from capybaras and dogs in Brazil. *Acta Trop.* **46**, 213-222.
439. STEVENSON, P. (1995). The epidemiology and control of *Trypanosoma vivax* infection in cattle in the Pantanal. Final report of a Consultancy by Dr Peter Stevenson. IICA/EMBRAPA-PROJETO PROMOAGRO; December 1995, Nairobi, Kenya ; 34 p.
440. STURM, N. R., DEGRAVE, W., MOREL, C., and SIMPSON, L. (1989). Sensitive detection and schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas' disease. *Mol. biochem. parasitol.* **33**, 205-214.
441. SUDARTO, M. W., TABEL, H., and HAINES, D. M. (1990). Immunohistochemical demonstration of *Trypanosoma evansi* in tissues of experimentally infected rats and a naturally infected water buffalo (*Bubalus bubalis*). *J. Parasitol.* **76**, 162-167.
442. SUMBA, L. A., MIHOK, S. and OYIEKE, F. (1997). Mechanical transmission of *Trypanosoma evansi* and *T. congolense* by *Stomoxys niger niger* and *S. taeniatum* in a laboratory mouse model. *Tropical Med. Int. Hlth.* (in press).
443. TAMASAUKAS, R. L. (1992). Epidemiological diagnosis of bovine trypanosomiasis in farms of Guarico state. Part I: prevalence. In: *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 194.
444. TAMASAUKAS, R. L. (1995). Estudio general de la trypanosomiasis bovina. In: M. Sci., Universidad Nacional experimental de los Llanos Centrales « Romulo Gallegos »; 242 p.
445. TÉJÉRA, E. (1920). Trypanosomiasis animales au Vénézuéla. *Bull. Soc. Path. Exot.* **13**, 297-305.
446. TEJERO, F. and ARISPE, M. (1984). *Trypanosoma evansi*. In-vitro serum dependent phagocytosis in Venezuela (1984). *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **37**, 263-269.
447. THOMPSON, R. D., MITCHELL, G. C. and BURNS, R. J. (1972). Vampire bat control by systemic treatment of livestock with an anticoagulant. *Science* **177**, 806-808.
448. THORSTEINSON, A. J. (1958). The orientation of horse flies and deer flies (*Tabaniade: Diptera*). I. The attractance of heat to tabanids. *Entomol. exp. Appl.* **1**, 191-196.
449. TIBAYRENC, M. et AYALA, F. J. (1987). *Trypanosoma cruzi* populations : more clonal than sexual. *Parasitol. Today*, **3**, 189-190.
450. TORO, M. (1990). Seroepidemiologia de las hemoparasitosis en Venezuela. In: *Hemoparasitos: Biología y diagnóstico* Ed. S. GIARDINA y F. GARCIA; Un. S. Bolívar, Maracay, Edo. Aragua, Venezuela; 48-49.
451. TORO, M., LEON, E., and LOPEZ, R. (1981). Haematocrit centrifugation technique for the diagnosis of bovine trypanosomiasis. *Vet. Parasitol.* **8**, 23-29.
452. TORO, M., ARENAS, E. L., BOYER, R. L., GARCIA, J. A., y RUIZ, A. (1980). Resultados de un muestreo sobre tripanosomiasis bovina mediante técnicas serológicas. *Vet. Trop.* **5**, 43-50.
453. TORO, M., BOYER, R. L., ARENAS, E. L., RUIZ, A., and GARCIA, J. A. (1982). Proteínas sericas y presencia de anticuerpos de *Trypanosoma* en chiguirens (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de Guasdalito, estado Apure. *Ciencias veterinarias* **11**, 47-54.
454. TORO, M., ARENAS, E. L., PALLOTA, F. L., LOPEZ, G., GARCIA, J. A., y RUIZ, A. (1983 a). Prevalencia de las hemoparasitosis en bovinos des estado Guarico. *Vet. Trop.* **8**, 21-36.
455. TORO, M., LEON, E., LOPEZ, R., PALLOTA, F., GARCIA, J. A., and RUIZ, A. (1983 b). Effect of isometamidium on infections by *Trypanosoma vivax* and *Trypanosoma evansi* in experimentally-infected animals. *Vet. Parasitol.* **13**, 35-43.
456. TOURATIER, L. (1984). Création et activités du groupe de travail international sur les infections à *Trypanosoma evansi*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **37** (N°spécial) 313-314.
457. TOURATIER, L. (1986). Quatrième réunion internationale sur *Trypanosoma evansi*: rapport du groupe de travail. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **5**, 215-222.
458. TOURATIER, L. (1987 a). Cinquième réunion internationale sur *Trypanosoma evansi*: rapport du groupe de travail. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **6**, 515-520.
459. TOURATIER, L. (1987 b). Huitième réunion internationale sur *Trypanosoma evansi*: rapport du groupe de travail. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **7**, 395-402.
460. TOURATIER, L. (1989). Neuvième réunion internationale sur *Trypanosoma evansi*: rapport du groupe de travail. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **8**, 1039-1046.
461. TOURATIER, L. (1990). Dixième réunion internationale sur *Trypanosoma evansi*: rapport du groupe de travail. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **9**, 1197-1207.
462. TOURATIER, L. (1992 a). Onzième réunion internationale sur *Trypanosoma evansi*: rapport du groupe de travail. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **11**, 285-294.
463. TOURATIER, L. (1992 b). Douzième réunion internationale sur *Trypanosoma evansi*: rapport du groupe ad hoc de l'OIE sur les trypanosomoses animales non transmises par les glossines. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **11**, 943-953.
464. TOURATIER, L. (1993). Rapport de la treizième réunion internationale du groupe ad hoc de l'OIE sur les trypanosomoses animales non transmises par les glossines. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **12**, 237-248.
465. TOURATIER, L. (1994). Minutes de la quinzisième réunion du groupe ad hoc de l'OIE sur les trypanosomoses animales non transmises par les glossines. Paris, 18 mai 1994 (non publié).



466. TOURATIER, L. (1995). Minutes de la seizième réunion du groupe *ad hoc* de l'OIE sur les trypanosomoses animales non transmises par les glossines. Paris, 17 mai 1995 (non publié).
467. TOURATIER, L. (1996). Rapport de la seizième réunion du groupe *ad hoc* de l'OIE sur les trypanosomoses animales non transmises par les glossines. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* (sous presse).
468. TOURE, S. M. (1977). Diagnostic des trypanosomiasis animales. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* **30**, 1-10.
469. TRAGER, W. (1939 a). Acquired immunity to Ticks. *J. Parasitol.* **25**, 57-81.
470. TRAGER, W. (1939 b). Further observations on acquired immunity to the tick *Dermacentor variabilis*. *Say. J. Parasitol.* **25**, 137-139.
471. TRONCY, P. M., ITARD, J. et MOREL, P. C. (1981). Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. *Ministère de la coopération et du développement; Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des pays tropicaux*; 717 p.
472. TRUC, P., BAILEY, J. W., DOUA, F., LAVEISSIERE, C., and GODFREY, D. G. (1994). A comparison of parasitological methods for the diagnosis of gambian trypanosomiasis in an area of low endemicity in Côte d'Ivoire. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **88**, 419-421.
473. UILENBERG, G. (1992). Nomenclature of trypanosomes of the subgenus *Trypanozoon*. In: *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 62.
474. UILENBERG, G. (1993). Other ehrlichioses of ruminants. In: Woldehiwet, Z. and Ristic, M.: Rickettsial and Chlamydial diseases of domestic animals. Pergamon Press, Oxford, GB, 1993; 293-332.
475. UILENBERG, G., CAMUS, E. et BARRE, N. (1983). Existence en Guadeloupe (French West Indies) de *Theileria mutans* et de *Theileria velifera* (Sporozoa, Theileriidae). *Rev. El. Méd. vét. Pays trop.* **63**, 261-264.
476. URDANETA MORALES, S. and NIRONI, I. (1996). *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of urban opossums. I - Isolation and experimental infections. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **91**, 399-403.
477. VALENCIA, G. R. (1967). Trypanosomiasis bovina. I Estudio preliminar de la respuesta hematologica a la infección por el tripanosoma vivax. *Revista ICA* **2**, 93-100.
478. VAN DER PLOEG, L. H. T., SCHWARTZ, D. C., CANTOR, C. R. and BORST, P. (1984). Antigenic variation in *Trypanosoma brucei* analysed by electrophoretic separation of chromosome-sized DNA molecules. *Cell* **37**, 77-84.
479. VAN MEIRVENNE, N. (1992). Diagnosis of African Trypanosomiasis. In *Premier Séminaire International sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines*; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; p. 32.
480. VAN VLAENDEREN, G. (1996). In search of cattle trypanosomiasis in Suriname. Master of science Thesis, Prince Leopold Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium.
481. VERY, P., BOCQUENTIN, R. et DUVALLET, G. (1990). Sensibilité de la double microcentrifugation pour la recherche des trypanosomes. *Rev. El. Méd. vét. Pays trop.* **43**, 325-329.
482. VIRVIESCAS, F. (1932). La lucha contra la tripanosomiasis bovina en la Costa Atlantica. *Revta Med. Vet. Bogota* **4**: 315-326.
483. VOHRADSKY, F. (1971). Clinical signs, daily rate of infection, physical changes of the blood and pathomorphological changes in cattle artificially infected by *Trypanosoma vivax*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **24**, 251-263.
484. VOKATY, S. (1994). Welcome to TRYPNEWS, Editorial. *Trypnews* **1** (1) 1.
485. VOKATY, S., McPHERSON, V. O. M., CAMUS, E. and APPELWHAITE, L. (1993). Ovine trypanosomosis: a seroepidemiological survey in Coastal Guyana. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* **46**, 57-59.
486. VOKATY, S., DESQUESNES, M., LA ROCQUE, S. (de), APPLEWHAITE, L., FAVRE, J., LIEUW-A-JOE, R., BANSKE-ISSA, L. and PARRIS-AARON, M. (1994). Hemoparasite Information Network for the Guianas. *The Kenyan Veterinarian* **18**, 35-37.
487. VOKATY, S., DESQUESNES, M., APPLEWHAITE, L., FAVRE, J., LIEUW-A-JOE, R., PARRIS-AARON, M. and BANSKE-ISSA, L. (1995). Hemoparasite network for the Guyanas. In: Program and Abstracts of papers and posters, 3rd biennial meeting of STVM, 8-12 mai 1995, San José, Costa Rica; p. 27.
488. VOKATY, S., DESQUESNES, M., APPLEWHAITE, L., FAVRE, J., LIEUW-A-JOE, R., PARRIS-AARON, M. and BANSKE-ISSA, L. (1996). TRYPNET. New Hemoparasite Information Network. *Annals of the New York Academy of Sciences* **791**, 166-171.
489. VOLLER, A., DRAPER, C. BIDWELL, D. E. and BARTLETT, A. (1975). Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for chagas disease. reprinted from *The Lancet*; 426-430.
490. VOLLER, A., BARTLETT, A. and BIDWELL, D. E. (1976). Enzyme immunoassays for parasitic diseases. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **70**, 98-106.
491. VOS, G. J. (1989). *Trypanosoma vivax* in ruminants: susceptibility of the host and antibody responses during infection. *Thèse de doctorat*, Rijksuniversiteit te Utrecht, Utrecht, Netherlands; 1-159.
492. VOS, G. J. and GARDINER, P. R. (1990). Parasite-specific antibody responses of ruminants infected with *Trypanosoma vivax*. *Parasitology* **100**, 93-100.
493. WAITUMBI, J. N. and MURPHY, N. B. (1993). Inter- and intra-species differentiation of trypanosomes by genomic fingerprinting with arbitrary primers. *Mol. Biochem. Parasitology* **58**, 181-186.
494. WASSAL, D. A., GREGORY, R. J. F. and PHIPPS, L. P. (1991). Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of Dourine. *Veterinary Parasitology* **39**, 233-239.
495. WELLS, E. A. (1972). The importance of mechanical transmission in the epidemiology of Nagana: a review. *Trop. Anim. Hlth Prod.* **4**, 74-88.
496. WELLS, E. A. (1984). Animal trypanosomiasis in south america. *Prev. Vet. Med.* **2**, 31-41.
497. WELLS, E. A., RUIZ, A., and OCHOA, R. (1968). Trypanosomiasis in Colombia. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **62**, 138.



498. WELLS, E. A., BETANCOURT, A. E., and PAGE, W. A. (1970). The epidemiology of bovine trypanosomiasis in Colombia. *Trop. Anim. Hlth Prod.* **2**, 111-125.
499. WELLS, E. A., BETANCOURT, A. and RAMIREZ, L. E. (1977 a). Serological evidence for the geographical distribution of *Trypanosoma vivax* in the new world. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **71**, 448-449.
500. WELLS, E. A., BETANCOURT, A. E., and RAMIREZ, L. E. (1977 b). The epidemiology of *Trypanosoma vivax* in Latin America. *J. Protozoology* **24**, 41-42.
501. WELLS, E. A., BETANCOURT, A. and RAMIREZ, L. E. (1977 c). The geographic distribution of *Trypanosoma vivax* in the New World. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **71**, 448.
502. WELLS, E. A., BETANCOURT, A. et RAMIREZ, L. E. (1982 a). *Trypanosoma vivax* en Colombie: Épidémiologie et incidence économique. *Revue Mondiale de Zootechnie* **43**, 17-23.
503. WELLS, E. A. and LUMSDEN, W. H. R. (1968). Trypanosome infections of wild mammals in relation to trypanosome disease of man and his domestic stock. *Symp. Zoo. Soc. Lond.* **24**, 133-145.
504. WELLS, E. A., RAMIREZ, L. E. and BETANCOURT, A. (1982 b). *Trypanosoma vivax* in Colombia: interpretation of field results. *Trop. Ani. Hlth. Prod.* **14**, 141-150.
505. WHITELAW, D. D., GARDINER, P. R., and MURRAY, M. (1988). Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goats: the central nervous system and aqueous humor of the eye as potential sources of relapse infections after chemotherapy. *Parasitology* **97**, 51-61.
506. WILLADSEN, P. and KEMP, D. H. (1988). Vaccination with « concealed » antigens for tick control. *Parasitology today* **4**, 196-198.
507. WILLIAMS, P. and CREWE, W. (1967). Studies of the control of the vectors of loiasis in West Africa. VIII. An attempt to control loiasis at KUMBA, West Cameroon. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **61**, 148-159.
508. WILSON, B. H., BRURNS, E. C., OGLESBY, W. T., MEYERS, R. B., ROGERS, T. E. and WIMBLERY, J. (1963). The effect of horse fly control on rate of infection of bovine anaplasmosis under field conditions in Louisiana. *J. Econ. Ent.* **56**, 578-579.
509. WILSON, S. G., MORRIS, K. R. S., LEWIS, I. J. and KROG, E. (1963). The effects of Trypanosomiasis on the economy (with special reference to the Sudan, Botswana and West Africa). *Bull. Wld. Hlth. Org.* **28**, 595-513.
510. WOO, P. T. K. (1969). The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. *Can. J. Zool.* **47**, 921-923.
511. WOO, P. T. K. (1970). The haematocrit centrifuge technique for diagnosis of African trypanosomiasis. *Acta trop.* **27**, 384-386.
512. WRIGHT, P. F., NILSSON, E., VAN ROOIJ, E. M. A., LELENTA, M., and JEGGO, M. H. (1993). Standardisation and validation of enzyme-linked immunosorbent assay techniques for the detection of antibody in infectious disease diagnosis. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **12**, 435-450.
513. WUYTS, N., CHOKESAJJAWATEE, N., SARATAPHAN, N. and PANYIM, S. (1995). PCR amplification of crude blood on microscope slides in the diagnosis of *Trypanosoma evansi* in dairy cattle. *An. Soc. Belge Med. Trop.* **75**, 229-237.
514. ZHANG, Z. Q. and BALTZ, T. (1994). Identification of *Trypanosoma evansi*, *Trypanosoma equiperdum* and *Trypanosoma brucei brucei* using repetitive DNA probes. *Vet. Parasitol.* **53**, 197-208.
515. ZHANG, Z. Q., GIROUD, C., et BALTZ, T. (1992). *In vivo* and *in vitro* sensitivity to *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum* to diminazene, suramin, MelCy, quinapyramine and isometamidium. *Acta trop.* **50**, 101-110.
516. ZWEYGARTH, E. and KAMINSKY, R. (1990). Direct *in vitro* isolation of *Trypanosoma brucei brucei* and *T. B. evansi* from disease hosts with low parasitaemia. *Trop. Med. Parasitol.* **41**, 56-58.

\* \* \*



# BIBLIOGRAPHIE

(lectures complémentaire au présent document)

1. Anonyme (1991 a). Lutte contre la maladie de Chagas. O.M.S., Série de Rapports techniques, Genève, **811**, 106 p.
2. CHIPPAUX, J.-P., DEDET, J.-P., GEOFFROY, B., TAVAKILIAN, G. et PAJOT, F.-X. (1983). La maladie de Chagas en Guyane Française, *publication O.R.S.T.O.M.*, Cayenne, Guyane Française, 32 p.
3. CUISANCE, D. (1996). Les grandes endémies parasitaires à transmission vectorielles; Glossines et trypanosomes. Cours de DEA de parasitologie 1996; 72 pages (non publié); disponible au CIRAD-EMVT, BP5035, 34032 Montpellier, France.
4. DESQUESNES, M. (1991). La Tique du Bétail: *Boophilus microplus*. Publication IEMVT-Guyane, Cayenne, Guyane Française; Octobre 1991; 22 p. (non publié); disponible au CIRAD Kourou, Guyane Française.
5. DESQUESNES, M. (1994). The cattle tick: *Boophilus microplus*. Traduit en Anglais par S. VOKATY, Publication IICA/CIRAD-EMVT, 24 p.; disponible à l'IICA-Guyana, BOX 10-1089 65, A. & P. Rose st., Queenstown, Georgetown, Guyana.
6. DESQUESNES, M. (1997). Epidemiology of *T. vivax* in bovines and ovines in French Guyana. *In* : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).
7. DESQUESNES, M. et GARRAIN, C. (1997). Origin and distribution of New World livestock trypanosomes and their affinity for some mammalian host. *In* : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).
8. DESQUESNES, M. et LA ROCQUE, S. (de) (1992). Les taons de Guyane: biologie, importance vétérinaire et méthodes de lutte. Publication CIRAD-EMVT, Cayenne, Guyane Française, 29 p.; disponible au CIRAD Kourou, Guyane Française.
9. DESQUESNES, M. et LA ROCQUE, S. (de) (1993 a). Les hémoparasitoses des bovins en Guyane Française, importance vétérinaire et méthodes de contrôle. Publication CIRAD-EMVT; Cayenne, Guyane Française, 23 p. (non publié); disponible au CIRAD Kourou, Guyane Française.
10. DESQUESNES, M. et LA ROCQUE (de), S. (1993 b). Horseflies of the Guyanas, biology, veterinary significance and control methods. Traducted by Dr S. VOKATY ; 33 p.; Publication IICA/CIRAD-EMVT; disponible à l'IICA-Guyana, BOX 10-1089 65, A. & P. Rose st., Queenstown, Georgetown, Guyana.
11. DESQUESNES, M. et LA ROCQUE, S. (de) (1994 a). Compte-rendu de la mise en place du Laboratoire de Référence et du réseau d'information sur les hémoparasites des Guyanes. Rapport FEDER 93 du CIRAD-EMVT-Guyane; 21 p. (non publié); disponible au CIRAD, Kourou, Guyane Française.
12. DESQUESNES, M. y LA ROCQUE, S. (de) (1994 b). Los tabanos de las guyanas, biologia, morfologia e importancia en la produccion animal y metodos de control. Traduit en espagnol par le Dr Hector MUNOZ, IICA, Paramaribo, Suriname, 31 p.; Publication IICA/CIRAD-EMVT; disponible à l'IICA-Guyana, BOX 10-1089 65, A. & P. Rose st., Queenstown, Georgetown, Guyana.
13. DESQUESNES, M., LA ROCQUE, S. (de) et GOUREAU, L. (1993). Compte-rendu de l'enquête épidémiologique sur les hémoparasitoses bovines en Guyane Française (Trypanosomoses, anaplasmoses et babésioses). Rapport CORDET 91-92; CIRAD-EMVT-Guyane, Cayenne, Guyane Française, 48 p. (non publié); disponible au CIRAD, Kourou, Guyane Française.
14. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1995 a). Advanced Haemoparasite Diagnostic Training Course. Annexe technique au rapport FIC 94. Publication CIRAD-EMVT-Guyane, Cayenne, Guyane Française, 46 p. (non publié); disponible au CIRAD Kourou, Guyane Française.
15. DESQUESNES, M. et TRESSE, L. (1995 b). Laboratoire de Référence et réseau d'information sur les hémoparasitoses dans les Guyanes. Rapport FIC 94; publication CIRAD-EMVT-Guyane, Cayenne, Guyane Française, 14 p. (non publié); disponible au CIRAD, Kourou, Guyane Française.
16. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1997 a). Sensitivity of the Woo test for detection of *Trypanosoma vivax*. *In* : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).
17. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1997 b). Characteristics and interpretation of the indirect-ELISA for *T. vivax* ; proposal for the standardisation of the results. *In* : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).
18. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1997 c). Utilisation of *T. evansi* antigens in indirect-ELISA for the diagnosis of *Trypanosoma* sp. in livestock. *In* : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).



19. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1997 d). Utilisation of *T. evansi* antigens in indirect-ELISA for diagnosis of Chagas disease in humans. In : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).
20. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1997 e). PCR for the diagnosis of *Trypanosoma* species in livestock; sample preparation to increase the sensitivity. In : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).
21. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1997 f). Resistance to diminazene aceturate and isometamidium chloride in some South American *T. vivax* and *T. evansi* ; consequences on treatment and chemoprophylaxis. In : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).
22. DESQUESNES, M. and TRESSE, L. (1997 g). Utilisation of *T. evansi* antigens in indirect-ELISA for diagnosis of Chagas disease in humans. In : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).
23. DESQUESNES, M., LA ROCQUE, S. (de) et GOUREAU, L. (1997). Seroprevalence of *T. vivax* and other haemoparasites in bovines in French Guyana. In : Proceedings of the First Symposium on New World Trypanosomes ; 20-22 November, Georgetown, Guyana ; (sous presse).
24. FAO/IAEA (1993). Improving the diagnosis and control of trypanosomiasis and other vector-borne diseases of african livestock using immunoassay methods. *FAO/IAEA/DGIS research programme* IAEA-TECDOC-707, IAEA, Vienna, 1-175.
25. FICHTL, A. (1996). Enquête épidémiologique sur les hémoparasitoses du bétail dans les trois Guyanes. Rapport d'étudiant vétérinaire, Toulouse, 10 p. (non publié) ; ENVT, Chaire de parasitologie, Toulouse, France.
26. FOIL, L.D. and HOGSETTE, J.A. (1994). Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 13, 1125-1158.
27. FRENAY, D. (1980). Les Tabanidés de Guyane Française; méthodes de lutte, intérêt du piégeage. Thèse Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 70 p.
28. FREZIL, J. L. (1994). Trypanosomes et trypanosomoses africaines. Généralités. *Note interne O.R.S.T.O.M.* 1-47 (non publié); disponible à l'O.R.S.T.O.M., BP5045, 34032 Montpellier, France.
29. GARDINER, P. R. and MAHMOUD, M. M. (1990) Salivarian trypanosomes causing disease in livestock outside Sub-Saharan Africa. In : Parasitic protozoa, J. R. Baker, Academic press, USA; 3, 1-66.
30. GARRAIN, C. (1996). Adaptation du bétail européen en Guyane Française en relation avec les principales pathologies locales. Mémoire de stage du DESS productions animales, année scolaire 1995-96 ; Cayenne, Guyane Française; 62 pages (non publié) ; disponible au CIRAD-EMVT, BP 5035, 34032 Montpellier, France.
31. GOUREAU, L. M. (1994). Réalisation d'une enquête épidémiologique sur les hémoparasitoses bovines en Guyane Française. Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse, 91 p.
32. HOARE, C.A. (1972). The trypanosomes of mammals. A Zoological Monograph. Blackwell Scientific Publications, Oxford, U.K., 749 p.
33. LA ROCQUE, S. (de) (1994). Contribution à l'étude de l'épidémiologie des trypanosomoses dans les Guyanes. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Lyon, 1994, 62 p.
34. LANCELOT, R. (1988). La trypanosomose bovine à *Trypanosoma vivax* en Guyane française. Contribution à l'étude clinique et épidémiologique. Thèse Doctorat vétérinaire; Maisons-Alfort, France, 116 p.
35. PREMIER SEMINAIRE INTERNATIONAL SUR LES TRYPANOSOMOSSES ANIMALES NON TRANSMISES PAR LES GLOSSINES; Annecy, France, 14-16 octobre 1992; *Résumés*, 233 pages; disponible du secrétaire du groupe de travail de l'OIE sur *Trypanosoma evansi*; L. TOURATIER, 228 Bd du Président Wilson, 33000 Bordeaux, France.
36. PROCEEDINGS OF THE FIRST SYMPOSIUM ON NEW WORLD TRYPANOSOMES, 20-22 November 1996, Georgetown, Guyana. Disponible à l'IICA-Guyana, BOX 10-1089 65, A. & P. Rose st., Queenstown, Georgetown, Guyana (à paraître).
37. RAYMOND, H. L. (1982). Insectes nuisibles au bétail et climat. In: Influence du climat sur l'animal au pâturage, Ed. INRA SAD Guyane, Theix, 31 mars-1<sup>er</sup> avril 1982; 169-183.
38. REYNES, J-M, MICHEL, J-C, DESQUESNES, M. (1995). Rapport sur le Barrage de Petit-Saut, Guyane Française, Institut Pasteur de Cayenne, 31 p., non publié.
39. REYNES, J.-M., DESQUESNES, M. et GANTEAUME, A. (1996). Immunisation antivectionnelle de mammifères. Rapport final d'activité; programme de recherche CORDET 93 DS 04 , janvier 1996, 25 p. (non publié) ; disponible à l'Institut Pasteur de Cayenne, BP6010, 97306 Cayenne, Guyane Française.
40. TAMASAUAKAS, R. L. (1995). Estudio general de la trypanosomiasis bovina. M. Sci., Universidad Nacional experimental de los Llanos Centrales « Romulo Gallegos » ; 242 pages. Disponible à l'Université « Romulo Gallegos », San Juan de los Morros, Estado Guarico, Venezuela.
41. TOURATIER, L. (1987 à 1992) Huitième à douzième réunion internationale sur *Trypanosoma evansi*: rapport du groupe de travail. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* (1987) 7, 395-402; (1989) 8, 1039-1046; (1990) 9, 1197-1207 ; (1992 a et b) 11, 285-294 et 943-953; (1993) 12, 237-248.
42. TRONCY, P. M., ITARD, J. et MOREL, P. C. (1981). Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. *Ministère de la coopération et du développement; Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des pays tropicaux*; 717 p. ; Nouvelle version à paraître.
43. TRYPNEWS. Journal d'information sur les hémoparasites, édité trimestriellement (co-éditeurs: S. VOKATY et M. DESQUESNES), diffusé auprès de 200 scientifiques. Abonnement sur demande auprès de S. VOKATY, IICA, Guyana. Sont disponibles les numéros suivants: 1994 1(1) ; 1995, 2(1) ; 1995, 2(2) ; 1995, 2(3) ; 1995, 2(4) ; 1996, 3(1).

\* \* \*



## **RESUMES DE LA THESE**



## RESUME EN FRANCAIS

Les principaux trypanosomes trouvés chez le bétail en Amérique Latine sont *Trypanosoma vivax*, *T. evansi*, *T. equiperdum*, *T. cruzi* et *T. theileri* ; ces deux derniers sont peu pathogènes chez le bétail. *T. vivax* est pathogène chez les ruminants (anémie, amaigrissement), et *T. evansi* chez les chevaux et les chiens (amaigrissement, mortalité), tandis que les buffles sont sensibles aux deux parasites (anémie, avortements). *T. equiperdum* n'est pathogène que chez les équidés, dans des foyers sporadiques. Ces trypanosomes interfèrent dans le diagnostic de laboratoire, alors qu'hémoparasites (*Anaplasma marginale*, *Babesia* spp., etc.) et autres agents infectieux interfèrent sur le plan clinique.

Une première partie, essentiellement bibliographique, fait le point des connaissances sur ces trypanosomes : origine, vecteurs, pathogénicité et répartition géographique; il en ressort que l'épidémiologie, la prévalence, et l'impact médical et économique sont souvent mal connus du fait du manque de spécificité et/ou de sensibilité des tests utilisés dans les enquêtes épidémiologiques.

Une seconde partie, principalement expérimentale, présente des études spéciales réalisées dans les Guyanes. La mise en place conjointe, par le CIRAD-EMVT<sup>22</sup> et l'IICA<sup>23</sup>, d'un réseau d'information sur les hémoparasites dans les Guyanes (TRYPNET), et la collaboration avec des laboratoires internationaux ont permis de réaliser des enquêtes épidémiologiques au Guyana, au Suriname et en Guyane Française, pour déterminer la prévalence des infections à *T. vivax* chez les bovins, collecter et diffuser des informations (TRYPNEWS<sup>24</sup>), éprouver diverses techniques de diagnostic, et établir que l'importance relative de *T. evansi* dans les Guyanes est négligeable. Les études ont donc porté plus particulièrement sur *T. vivax*, et des enquêtes approfondies menées en Guyane Française chez les ovins et bovins ont permis de déterminer les principaux éléments de son épidémiologie.

L'évaluation du test de WOO, de tests de détection d'immunoglobulines M (IgM) (CATT test et ELISA) et d'IgG par ELISA-indirectes *Trypanosoma* spp., la réévaluation des antigène-ELISA, ainsi que l'amélioration des techniques de PCR pour le diagnostic des trypanosomoses ont été réalisées, sur la base d'infections expérimentales (*T. vivax* et *T. evansi*) et d'échantillons collectés sur le terrain. Mis à part les antigène-ELISA, insuffisamment sensibles et spécifiques, et la détection des IgM insuffisamment reproductible, les techniques éprouvées trouvent leur application dans divers contextes, mais la détection spécifique d'espèce des anticorps et des antigènes fait cruellement défaut ; ainsi *T. cruzi* et *T. evansi* interfèrent-ils dans le sérodiagnostic de la dourine chez les équidés, et dans celui de la trypanosomose à *T. vivax* des ruminants.

La caractérisation de souches de *T. vivax* et *T. evansi* de Guyane Française et du Venezuela a été entreprise (morphométrie, culture sur souris, pathogénicité chez le mouton, protection croisée entre souches de *T. vivax*, et caractérisation par PCR avec des amorces arbitraires) ; il en résulte que la pathogénicité des *T. vivax* locaux n'atteint pas celle des certaines souches africaines mais son importance médicale et économique n'en est pas pour autant négligeable; des hypothèses sont formulées sur la relation entre pathogénicité et polymorphisme génétique lié au mode de transmission (mécanique en Amérique et principalement cyclique en Afrique). Le rôle des ovins, pressenti sur le terrain comme hôte et réservoir de *T. vivax* et *T. evansi*, est confirmé en conditions expérimentales.

Les modes de lutte contre les trypanosomes et leurs vecteurs sont présentés, ainsi que l'étude de la sensibilité de parasites locaux aux 2 trypanocides les plus utilisés sur le continent ; il en résulte que la plupart des souches sont résistantes à l'acéturate de diminazène mais sensibles au chlorure d'isométymidium. Des essais de lutte contre les taons par immunisation des bovins à l'aide d'antigènes intestinaux de Tabanidés n'augurent pas d'un mode de lutte efficace.

Enfin, une synthèse sur la trypanosomose à *T. vivax* en Guyane Française est présentée, la stratégie de recherche sur le plan du diagnostic est discutée ainsi que les perspectives de contrôle des trypanosomes présents en Amérique Latine, et les risques d'extension géographique et/ou temporelle de ces parasites.

<sup>22</sup> CIRAD-EMVT : Centre de Coopération International pour la Recherche Agricole et le Développement-Elevage et Médecine Vétérinaire Tropicale ;

<sup>23</sup> IICA : Inter-American Institute for Cooperation on Agriculture ;

<sup>24</sup> TRYPNEWS : Newsletter of the hemoparasite information network (TRYPNET).



## RESUME EN ANGLAIS

The main livestock trypanosomes existing in Latin America are *Trypanosoma vivax*, *T. evansi*, *T. equiperdum*, *T. cruzi* and *T. theileri* ; the last two are slightly pathogenic in livestock. *T. vivax* is pathogenic in ruminants (anemia, loss of weight), *T. evansi* is pathogenic in horses and dogs (loss of weight, mortality), while buffaloes are sensitive to both parasites (anemia, abortion). *T. equiperdum* is pathogenic in *equidae*, in sporadic outbreaks. All these trypanosomes can interfere in laboratory diagnosis, while haemoparasitoses (*Anaplasma marginale*, *Babesia* spp., etc.) and other infectious diseases can interfere in the clinical diagnosis.

In the first part, a review on these trypanosomes (origin, vectors, pathogenicity and geographic distribution) suggests that epidemiology, prevalence, medical and economical impacts are not known accurately, due to non specific and/or low sensitive diagnosis techniques used in most of the epidemiological surveys.

In the second part, surveys and experimental studies carried out in the Guianas are presented. With the support of international laboratories, the Haemoparasite information network (TRYPNET) set up in collaboration between CIRAD-EMVT<sup>25</sup> and IICA<sup>26</sup> organized epidemiological surveys in Guyana, Suriname and French Guiana, to evaluate prevalence of *T. vivax* infections in cattle, collect and exchange informations through a newsletter (TRYPNEWS<sup>27</sup>), evaluate diagnosis techniques, and establish that the impact of *T. evansi* is negligible in the Guianas. Further investigations were then carried out on *T. vivax* infections ; analytic epidemiology was studied in French Guiana in cattle and sheep, to determine the main epidemiological parameters.

The WOO test, immunoglobulin M (IgM) (CATT test and ELISA) detection tests, and IgG detection tests through indirect-ELISA *Trypanosoma* spp. were evaluated. Antigen-ELISAs were re-evaluated, and PCR techniques for diagnosis were improved, based on samples from field and experimental infections (*T. vivax* and *T. evansi*). Apart from insufficiently sensitive and specific antigen-ELISA, and insufficiently reproducible IgM detection, all tests may find their application in various contexts, although there is a lack of species-specific and sensitive detection of antigens and antibodies are lacking ; thus, *T. cruzi* and *T. evansi* can interfere in serodiagnosis of dourine in *equidae*, and in trypanosomosis due to *T. vivax* in ruminants.

Characterization of *T. vivax* and *T. evansi* from Venezuela was initiated (morphometry, ability to grow in mice, pathogenicity in sheep, cross protection between *T. vivax* isolates, and characterization through random priming PCR) ; it appears that pathogenicity of the local stocks of *T. vivax* recently observed is lower than initially observed, and lower than most of the African stocks, but that their economical impact is not negligible. Hypotheses are formulated on the linkage between pathogenicity and genetic polymorphism, in relation with mechanical transmission in Latin America and cyclical transmission in Africa. The potential role of sheep as host and reservoir of *T. vivax*, derived from field observations, was confirmed in experimental conditions.

Techniques for the control of trypanosomes and their vectors are recalled, and the sensitivity of local stocks is evaluated under laboratory and field conditions, against the two most frequently used trypanocides on the sub-continent ; most of the local stocks are resistant to diminazene aceturate and sensitive to isometamidium chloride. Assays to immunize cattle against horse flies by inoculation of horse flies gut antigens indicated very limited effects, and were not considered as a potential mean for vector control.

Finally, a synthesis on *T. vivax* trypanosomosis in French Guiana is presented, research strategy on diagnosis and perspective for the control of trypanosomes existing in Latin America are discussed, and risks for geographical and/or temporal extension of these parasites are evocated.

<sup>25</sup> CIRAD-EMVT : Centre de Coopération International pour la Recherche Agricole et le Développement-Elevage et Médecine Vétérinaire Tropicale ;

<sup>26</sup> IICA : Inter-American Institute for Cooperation on Agriculture ;

<sup>27</sup> TRYPNEWS : Newsletter of the hemoparasite information network (TRYPNET).



**EDESSA**

Centro de Tratamiento de Documentos Científicos



**Centro dos Serviços Reprográficos**

REPROGRAPHIE INDUSTRIELLE - EDITIONS - PHOTOCOPIES - RELIURES - COPIES COULEURS - IMPRIMERIE



0467 842 766